

氏名	野依 久美子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博甲第 3596 号
学位授与の日付	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	多剤耐性菌に対し有効性を示す抗菌物質、抗菌薬感受性増強物質及び病原因子産生阻害物質に関する研究
論文審査委員	教授 土屋 友房 教授 波多野 力 准教授 中尾 浩史

学位論文内容の要旨

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)、vancomycin resistant enterococci (VRE)や緑膿菌は、日和見感染の主要な原因菌であり、宿主の免疫力低下等に伴い感染症を引き起こす。これらは多くの抗菌薬に対し耐性を示すため治療薬が非常に限られており、時には有効な治療薬が存在しない症例も見受けられる。このような耐性菌感染症に対応すべく、従来の抗菌薬の開発に加えて新たな治療法の開発が試みられている。本実験では、従来行われてきた抗菌活性物質に加え、抗菌薬感受性増強物質及び病原因子産生阻害物質に焦点を当て研究を行った。

I. 抗菌物質について

セージ 70% acetone エキスに、臨床問題となる腸球菌 2 種 (*Enterococcus faecium*, *E. faecalis*) に対する抗菌活性が見られた。そのエキスを種々のカラムクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーで分離・精製することにより、腸球菌に対する MIC が 8 $\mu\text{g/ml}$ を示す oleanolic acid を得た。構造のよく似た ursolic acid についても抗菌活性を検討したところ、oleanolic acid よりも 2 倍程度強い抗菌活性を示した。腸球菌以外の菌に対する作用の検討も行ったところ、黄色ブドウ球菌や肺炎球菌などのグラム陽性菌に対し抗菌活性を示し、グラム陰性菌には無効であった。生菌数の測定により、*E. faecium* に対し殺菌的作用を示すことも明らかとなった。

II. 抗菌薬増強物質について

セージ 70% acetone エキスに、腸球菌に対する arbekacin の抗菌活性増強作用が見られた。分離・精製を行い、活性成分として carnosol を得た。類似化合物の carnosic acid についても検討を行ったところ、ほぼ同様の活性がみられた。Arbekacin 以外のアミノグリコシド系抗菌薬や ethidium bromide 等多系統の抗菌薬に対しても抗菌活性増強作用が見られた。他の菌では腸球菌に匹敵するほどの活性がみられなかったことより、併用活性は腸球菌に特異的であると思われる。

III. 病原因子産生阻害物質について

緑膿菌の quorum-sensing 阻害物質を探索するため、quorum-sensing によって産生が制御されている病原因子の elastase、pyocyanin 阻害作用に着目しスクリーニングを行った。terpenoids に elastase 産生阻害作用が見られた。その中で最も阻害の強かったのは asiatic acid であり、asiatic acid 50 $\mu\text{g/ml}$ 存在下培養を行ったところ、コントロールの elastase 活性の約 30% に抑制する効果が見られた。また、terpenoids は pyocyanin 産生についても阻害作用を示し、asiatic acid 存在下ではコントロールの約 30% に pyocyanin 量が抑制された。Terpenoids は緑膿菌に対して抗菌活性を示さず (MIC >256 $\mu\text{g/ml}$)、生菌数にもほとんど影響を与えていないため、菌の生育を阻害したのではなく elastase や pyocyanin の産生に影響を与えたと考えられる。また、今回複数の阻害作用が見られたことより、それぞれ単独の産生や活性を阻害しているのではなく、それらを制御している quorum-sensing 機構を阻害しているのではないかとと思われる。

論文審査結果の要旨

微生物感染症は人類の死亡原因の第一位である。先進諸国では特に多剤耐性菌による感染症が大きな問題となっている。多剤耐性菌には多くの抗菌薬が効かないため、多剤耐性菌による感染症の治療は難渋化することが多い。多剤耐性菌として問題になっている代表的な細菌はバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、緑膿菌などである。現在、これらの耐性菌に有効な医薬品の開発が望まれている。この学位論文の著者は、VRE や MRSA に対する抗菌物質、VRE に対してアミノグリコシド系抗菌薬の効力を増強させる物質、緑膿菌の病原因子の産生を抑える物質を見だし、それらの効果、作用機構などを解析した。まず、食品にも使われるセージ中に VRE や MRSA に対する抗菌物質が存在することを見だし、その有効成分を単離し、Oleanolic acid であることを明らかにした。また、Oleanolic acid と構造が似ている Ursolic acid にも同様の効果があることも明らかにしている。一方、VRE に対してアミノグリコシド系抗菌薬の効力を増強させる物質として、同じくセージから Carnosol を見いだしている。Carnosol の構造類似体である Carnosic acid にも同様の効果があることも明らかにしている。更に、Triterpenoids が緑膿菌の病原因子の産生を抑えることを見いだしている。いずれも上記の耐性菌に有効なシーズを見いだしたという段階であるが、結果は大変興味深いものである。この論文の内容には新規性があり、当該分野の発展への貢献が期待される。実験方法は妥当であり、実験結果には信頼性がある。実験結果の図表も適切に表現されており、実験結果の説明、議論も妥当である。関連の論文も適切に引用されている。以上のことから、審査委員会はこの論文が博士（薬学）の学位に値するものであると判断した。