

| | | | |
|---------|---|----------|------------------------|
| 氏名 | 大塚 菜緒 | | |
| 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 3852 号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成 21 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 | 月桂樹由来 kaempferol 配糖体の抗メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 活性とその作用機構 | | |
| 論文審査委員 | 教授 土屋 友房 | 教授 波多野 力 | 教授 佐々木 健二 准教授 中尾 浩史 |

学位論文内容の要旨

近年、抗菌薬に耐性を持つ薬剤耐性菌の出現と拡大が医療現場で大きな問題となっている。薬剤耐性菌の中でも、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の全体に占める報告件数は最も多く、2006 年の日本における報告件数(約 460 基幹定点)は 23098 件にものぼる。MRSA は β -lactam 薬のみならず、その他 aminoglycoside 系、macrolide 系、quinolone 系抗菌薬など多くの抗菌薬にも耐性を示すため、その感染症の治療は難渋化しやすい。現在のところ、MRSA 感染症治療の第一選択薬としては glycopeptide 系の vancomycin が用いられているが、この vancomycin にも耐性を示す MRSA (VRSA という) も出現している。MRSA 感染症治療におけるこのような困難な状況を解決するため、有効な新規抗菌薬の開発や新たな治療法の開発が緊急の課題となっている。そこで私は、新規抗菌薬のリードとなりうる物質の探索を目的として研究を行った。まず、本研究で私は、月桂樹やローレルとして知られる *Laurus nobilis* L. (クスノキ科)の葉に MRSA、VRE に対して抗菌活性が非常に強い物質が含まれることを見出し、抗菌物質 kaempferol 3-O- α -L-(2'', 4''-di-E-p-coumaroyl)-rhamnoside (C2)及び kaempferol 3-O- α -L-(2''-E-p-coumaroyl -4''-Z-p-coumaroyl)-rhamnoside (C3)を単離・同定した。そして、C2, C3 の抗菌活性や作用機構について解析を進めた。

C2, C3 の抗菌活性について

C2 と C3 は、複数の抗菌薬に対して耐性となっている様々な MRSA 株に対して、非常に強い抗菌活性を示した。さらに C2, C3 は、バンコマイシンに高度に耐性化した *E. faecium*, *E. faecalis* の VRE 株に対しても抗菌活性を示した。しかし、同じくグラム陽性菌でも *S. pneumoniae* に対しては測定濃度範囲での抗菌活性を示さず、グラム陰性菌である *P. aeruginosa*, *S. marcescens* に対しても抗菌活性が見られなかった。C2, C3 の *S. aureus* 生菌数へ与える影響を調べたところ、これらは静菌的に働くことが分かった。

C2, C3 の作用機構について

C2, C3 の構造式から抗菌ターゲットを推定した。flavonoid 類が抗菌活性を示す作用機構に関するこれまでの報告から DNA gyrase (gyrase)と topoisomerase IV (topo IV)を阻害している可能性が高いと考えた。そして、*S. aureus* N315 の gyrase と topo IV を精製し、その酵素を用いて、酵素に対する C2, C3 の直接的な阻害効果を調べた。*S. aureus* の gyrase, topo IV に対して C2, C3 は強い阻害効果を示したが、IC₅₀ で比較すると、topo IV の場合の方が gyrase に対する場合よりも約 4 倍強く阻害した。つまり、C2, C3 は topo IV を primary に阻害するようであった。しかし、topo IV, gyrase ともに C2, C3 の IC₅₀ の値が低いことから、これらを二重に阻害することで強い抗菌活性を示しているものと考えられた。

論文審査結果の要旨

抗菌薬が効かなくなった薬剤耐性菌による感染症が臨床現場で大きな問題となっている。しかも、多くの抗菌薬に耐性となった多剤耐性菌による感染が拡大しており、重大な問題となっている。多剤耐性菌の中で最も分離頻度が高く、その感染症の治療が非常に難しくなっているのがメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）である。この論文で筆者は、月桂樹の葉抽出物中に抗 MRSA 活性を持つ物質が存在することを見出し、活性物質を2つ単離・精製した。構造解析の結果、それらは kaempferol 配糖体であることがわかった。それらの物質（C 2, C 3）の抗 MRSA 活性の強さ、抗菌スペクトルを解析した。その結果、調べたすべての MRSA 株に対して強い抗菌活性を示すこと、およびバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）にもかなり抗菌活性を示すことがわかった。他の抗菌物質との構造の類似性から C 2 と C 3 の作用点が、DNA gyrase と topoisomerase IV ではないかと考え、それらの酵素を精製して阻害効果を調べたところ、両酵素を強く阻害することがわかった。これら2つの酵素のうち topoisomerase IV を primary target とすることもわかった。C 2 耐性変異株を分離し解析したところ、分離頻度が通常より低いこと、高度耐性株が出にくいことなどがわかった。このような点を考えると、C 2 と C 3 は抗 MRSA 薬の優れたシーズとなると思われる。

この論文の内容には新規性があり、当該分野の発展に貢献するものであると考えられる。実験は適切に行われており、信頼性がある。実験結果の表現も適切であり、議論の進め方、結論は妥当である。また、文献の引用も適切である。

以上を総合的に考え、この論文は博士（薬学）の学位にふさわしいものと判断した。