

氏名	岡村 真弥
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬科学
学位記授与番号	博甲 第 5516 号
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 薬科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	コウホネ由来化合物 6,6'-dihydroxythiobinupharidine (DTBN) の抗菌作用と作用機構の解析
論文審査委員	教授 上原 孝 (主査) 教授 竹内 靖雄 准教授 表 弘志

学位論文内容の要旨

近年, methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) や vancomycin resistant enterococci (VRE) といった薬剤耐性菌による感染症が問題となっている。このような感染症に対抗するため, 新規抗菌薬の開発は急務であるといえる。私たちの研究室にて, 新規抗菌薬の候補化合物として, 生薬センコツから強い抗菌活性を有する化合物 6,6'-dihydroxythiobinupharidine (DTBN) が見出された。しかし, その抗菌活性の評価対象は不足しており, 抗菌作用機構や既存抗菌薬との併用効果も未解析であった。私は DTBN の様々な菌種や臨床分離株に対する抗菌活性を評価し, 抗菌作用機構を解析した。また, DTBN と既存抗菌薬の併用効果も評価し, その作用機構について検討した。

まず, DTBN を大量に得るための分画操作の確立に取り組んだ。前任者らによる分画操作は再現性や一度に得られる収量の面で問題があった。私はこの分画操作を改良し, 前任者と比較して約 2 倍の収率で一度に数百 mg 程度の DTBN を得る分画操作の確立に成功した。そして, 約 550 mg の DTBN を得た。

DTBN の各種細菌, 菌株に対する抗菌活性を評価した。DTBN は臨床分離株を含む *S. aureus* 25 株や *E. faecalis* 11 株, *E. faecium* 16 株に対して既存抗菌薬と同程度の強い抗菌活性を示した。一方で DTBN はグラム陰性菌の野生株に対して抗菌活性を示さなかった。DTBN の抗菌作用機構について検討した結果, DTBN は細菌の DNA 複製に必須の酵素である Topoisomerase IV に対して, 既存抗菌薬と同程度の阻害活性を示した。一方で, DTBN の

Topoisomerase IV に対する作用機序は quinolone 系抗菌薬や novobiocin といった既存の Topoisomerase IV 阻害薬と異なることが示唆された。また、DTBN の耐性変異株の分離頻度は quinolone 系抗菌薬と比較して顕著に低いことが明らかとなった。DTBN は臨床分離される様々な MRSA や VRE に対して、新規作用機序により強い抗菌活性を有し、なおかつ耐性変異株の分離頻度が低いことから、DTBN は新規抗菌薬の候補化合物として有用である可能性が考えられる。

更に DTBN と既存抗菌薬の併用効果を評価した。DTBN は MRSA の一部の株に対する oxacillin, VRE の多くの株に対する vancomycin の MIC を顕著に低下させた。また、DTBN はほぼ全ての *S. aureus*, 腸球菌に対する aminoglycoside 系抗菌薬の MIC を顕著に低下させた。DTBN は単独で強い抗菌活性を有するだけでなく、既存抗菌薬の抗菌活性を大幅に上昇させる活性を有することからも新規抗菌薬の候補化合物として有用であることが示唆された。DTBN と vancomycin の併用効果はこれまでに報告がないほど強いものであった。この作用機構について解析を行ったところ、DTBN は VRE における vancomycin 耐性遺伝子を顕著に抑制しなかった一方で、VRE に対する vancomycin の結合量を回復させる作用を有していた。この作用機構を解析することで VRE に対する新規標的を見出すことができると考えている。

論文審査結果の要旨

初稿の学位論文では、実験結果に基づく考察の展開ならびに成分の単離同定法に不明瞭な部分があることを審査委員会で指摘された。また、一部の実験において適切なコントロールが取られていない点や解析方法に問題があり、明瞭な結論を得るには不十分な箇所も見受けられた。これらの問題点に対して、申請者は訂正・修正を行い、改訂された学位論文では指摘された点はすべて修正されていることを確認した。審査委員会ではこの点を踏まえ、本学位論文は学術的な意義を有していることで意見が一致した。したがって、博士の学位に値すると判断し、最終的に合格とした。