

氏名	なか 井 徹 <small>とおる</small>
学位の種類	博士 (農 学)
学位記番号	論農博第 2515 号
学位授与の日付	平成 16 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Antifungal Characterization of FK463, an Inhibitor of 1,3- $\beta$ -D-Glucan Synthesis in Fungal Cell Walls (真菌細胞壁 1,3- $\beta$ -D-グルカン合成阻害剤 FK463 の抗真菌作用に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 宮本 元 教授 今井 裕 教授 佐々木義之

### 論 文 内 容 の 要 旨

カビの培養液から単離された環状リポペプチドであるミカファンギン (FK463) は、エキノキャンディンと類似構造を有する抗真菌物質であり、細胞壁 1,3- $\beta$ -D-グルカンの生合成を阻害するという新たな抗真菌作用機序を有する。1,3- $\beta$ -D-グルカンは哺乳類の細胞には存在しないが、多くの真菌の細胞壁を構成する主要成分として知られ、細胞壁の構造および強度の維持に重要な役割を担っている。したがって、1,3- $\beta$ -D-グルカンを作用標的とする FK463 は、真菌に対してのみ作用する安全な抗真菌剤として期待される。本研究は、in vitro および種々の感染モデルマウスを用いて FK463 の抗真菌作用を検討し、その臨床的有用性とともにより新規作用標的としての 1,3- $\beta$ -D-グルカンの有用性についても明らかにすることを目的としたものである。

本論文は序論、5 章および総括より構成されており、主な内容は以下に示すとおりである。

序論では、近年増加しつつある真菌感染症、FK463 の作用標的である 1,3- $\beta$ -D-グルカン、並びに FK463 の概要、物質特性および作用機序について解説するとともに、本研究の目的を述べている。

第一章では、深在性真菌症の起因菌として重要な病原性糸状菌に対する FK463 の in vitro 抗真菌活性を検討し、FK463 は *Aspergillus* 属および黒色真菌類の発育を抑制するが、接合菌類や *Pseudallescheria boydii* に対しては活性を示さないことを明らかにした。

第二章では、病原性が非常に強く環境中では菌糸形態を、感染宿主内では酵母形態を呈する二形性真菌類に対する FK463 の抗真菌作用を検討し、その作用が発育形態により大きく異なることを明らかにした。第一章および第二章の結果から、真菌発育における細胞壁 1,3- $\beta$ -D-グルカンの重要度は菌種間、菌株間および発育形態間で著しく異なることを示すとともに、FK463 が臨床的に有効と考えられる菌種を特定した。

第三章では、FK463 の in vivo における効果を、後天性免疫不全症候群患者において高率に発症する口腔および食道カンジダ症のモデルマウスを用いて検討した。その結果、舌および食道の粘膜角質層から上皮内へ向かって侵入する高度の菌集落とそれに伴う炎症像が、FK463 を投与することにより完全に消失し、投薬中止後の再発もみられないことを微生物学的および病理組織学的手法を用いて明らかにし、FK463 は *Candida* による感染症において起因菌を根絶することにより効果を発揮することを示した。

第四章では、ヒトや動物の呼吸器に好発するアスペルギルス症のモデルマウスにおける FK463 の効果を検討した。ここでは、感染病巣内で FK463 の作用により、起因菌、*Aspergillus* の菌糸が受ける致命的なダメージを電子顕微鏡で捉えることに成功し、FK463 は *Aspergillus* に対して in vitro では静菌的であるが、in vivo では菌糸先端部を破壊することにより菌糸の組織侵襲性を減弱させ、病態の改善に寄与することを示した。

第五章では、作用機序の異なる二つの抗真菌物質を併用することによる相乗効果について検討した。その結果、真菌の細胞膜を傷害するポリエンマクロライド系抗真菌剤であるアムホテリシン B と FK463 とを併用することにより、*Aspergillus*

や*Cryptococcus*に対する作用が増強されることを示した。また、肺アスペルギルス症のモデルマウスにおいてもFK463とアムホテリシンBとの併用が非常に有効であることを、微生物学および病理組織学的手法を用いて明らかにした。

総括では、以上の成績をもとに抗真菌剤の作用標的としての真菌細胞壁1,3- $\beta$ -D-グルカンの有用性と、その合成阻害剤であるFK463の有用性について考察した。結論として、FK463はその抗真菌スペクトル、in vivoでの殺菌作用および他の抗真菌薬との併用による活性増強の可能性という点で、医学的および獣医学的に有用な薬剤であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

真菌感染症は人畜共通の感染症として近年生体防御機能の低下した宿主の増加に伴って問題化している。畜産分野においてもウシの流産の原因となるなど、生産性に与える影響は少なくない。カビの培養液から単離された環状リポペプチドであるミカファンギン (FK463) は、真菌細胞壁1,3- $\beta$ -D-グルカンの生合成を阻害するという新たな作用機序を有する抗真菌剤である。1,3- $\beta$ -D-グルカンは哺乳類の細胞には存在しないが、多くの真菌の細胞壁を構成する主要成分として知られ、細胞壁の構造および強度の維持に重要な役割を担っている。したがって、1,3- $\beta$ -D-グルカンを作用標的とするFK463は、真菌に対してのみ作用する安全な抗真菌剤として期待される。本研究は、in vitroおよび種々の感染モデルマウスを用いてFK463の抗真菌作用を検討し、その臨床的有用性とともに入新規作用標的としての1,3- $\beta$ -D-グルカンの有用性についても明らかにすることを目的としたものであり、評価すべき主な成果は以下のとおりである。

1. 臨床的に重要な病原性糸状菌に対するFK463のin vitro抗真菌活性を検討し、FK463が臨床的に有効と考えられる菌種を特定した。さらにその結果から、真菌発育における細胞壁1,3- $\beta$ -D-グルカンの重要度が菌種間・菌株間および発育形態間で著しく異なるという微生物学的に重要な知見を得た。二形性真菌類における1,3- $\beta$ -D-グルカンの重要度が発育形態により大きく異なることを世界で初めて明らかにしたことは、特に評価に値する。

2. 臨床での病態を正確に再現したモデルマウスを用いて薬剤の作用を検討することにより、臨床的な薬剤の効果を正確に評価したものである。口腔および食道カンジダ症に対する既存の治療薬は、作用が静菌的であるため治療に長期間を要し、またそのために耐性菌の出現を招くという問題を抱えている。本研究が明らかにした、FK463が起因菌である*Candida*を根絶することにより治療効果を発揮するという知見は、FK463が本症を短期間で根治させる有望な薬剤であることを示すものである。*Aspergillus*に対しては、FK463がin vitroで静菌的な作用しか示さないにも関わらず、in vivoで高い治療効果を示すことが知られていたが、その矛盾を説明する知見は得られていなかった。本研究では、FK463が*Aspergillus*の菌糸先端部を破壊することにより、*Aspergillus*の組織侵襲性を減弱させ、病態の改善に寄与することが示された。この知見は、FK463がin vivoで高い効果を発揮する機序を明確に説明するものである。また、本研究は感染病巣内での*Aspergillus*に対する抗真菌剤の作用を電子顕微鏡により精査した、世界で初めての研究である。

3. 作用機序の異なる二つの抗真菌物質を併用することの有用性をin vitroで示し、病態モデルマウスを用いてそれを検証したものである。重篤な真菌感染症を単独の薬剤で治療することは難しく、効果の増強や抗真菌スペクトルの拡大、耐性菌出現の回避を目的として二つの薬剤を併用することの意義は大きい。本研究では、細胞壁1,3- $\beta$ -D-グルカンの合成阻害という新規メカニズムを有するFK463と、細胞膜傷害作用を有するアムホテリシンBとを併用することの有用性を示した。この知見は、真菌感染症の治療に両薬剤の併用療法が有効である可能性を示すものである。

以上のように本論文は、感染病態モデルマウスを用いた研究を中心として、FK463の抗真菌剤としての臨床的有用性とともに入、真菌細胞壁1,3- $\beta$ -D-グルカンの微生物学的重要性についても明らかにしたものであり、微生物学、生体機構学および化学療法学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成15年12月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。