

京都大学	博士（生命科学）	氏名	甲斐 寛人
論文題目	微生物の生産する新規抗真菌抗生物質 KB425796-A 類縁体に関する研究		

（論文内容の要旨）

深在性真菌症は、血液を含む体内各臓器に *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* 属などの真菌が感染することによって生じる疾患である。現在使用されている主な深在性真菌症の治療薬としては amphotericin B, アゾール系抗真菌剤、カンディン系抗真菌剤があるものの、amphotericin B では強い腎毒性の副作用、アゾール系抗真菌剤では薬剤相互作用による抗癌剤や免疫抑制剤との併用の制限がある。近年開発されたカンディン系抗真菌剤の micafungin, caspofungin, anidulafungin は、真菌細胞壁の構成要素である  $\beta$ -1,3-glucan 合成酵素を阻害し、副作用、薬物相互作用の比較的少ない薬剤である。しかし、*Candida* 属に対しては強い殺菌作用を有するのに対して、*Aspergillus* 属に対しては静菌的な作用にとどまり、*Cryptococcus* 属, *Trichosporon* 属, *Rhizopus* 属などの病原真菌には作用しないという課題があった。

本研究では、上述の課題を解決する薬剤の開発を目的として *Aspergillus fumigatus* に抗真菌作用を有する新規な抗真菌物質の探索を行った。カンディン系抗真菌剤をはじめとする既知の真菌細胞壁合成阻害剤は *A. fumigatus* に作用させた場合に菌糸の特徴的な形態変化を誘導する。申請者は、自然界から単離したカビ、放線菌、バクテリアの培養上清を *A. fumigatus* に作用させ、その菌糸の形態変化を観察することで、新規な抗真菌物質 KB425796-A とそれを生産する *Paenibacillus* 属 530603 株を発見した。530603 株培養上清から溶媒抽出法と液体クロマトグラフィー法により KB425796-A を単離し、HR-LC/MS 分析、NMR 分析により KB425796-A の構造を 12 アミノ酸と脂肪酸側鎖からなる環状リポペプチドラク톤構造であると同定した。KB425796-A の抗真菌スペクトルを調べたところ *Aspergillus* 属の他に micafungin 耐性である *Cryptococcus* 属, *Trichosporon* 属, *Rhizopus* 属, *Pseudallescheria* 属に抗真菌活性を有した。さらに、KB425796-A と同じ作用をもつ類縁体を 530603 株培養上清から 10 種類単離し KB425796-B~K を得た。これら類縁体の抗真菌活性評価を行ったところ、KB425796-C において KB425796-A より 2 倍の抗 *A. fumigatus* 活性を認めた。

KB425796-A, C と micafungin はいずれも *A. fumigatus* の菌糸の正常な伸長を阻害する作用があった。KB425796-A, C と micafungin をそれぞれ同時に *A. fumigatus* に作用させたところ、その菌糸の伸長は完全に阻害され、胞子から発芽した菌糸は球形に膨張しやがて破裂した。さらに KB425796-C と micafungin の併用による抗 *A. fumigatus* 活性を詳細に調べたところ、強力な相乗作用があることが示され、それぞれ単独の薬剤では静菌的な作用に留まるところが、併用することで殺菌作用が得られることが示された。*A. fumigatus* 全身感染マウスモデルにおいても KB425796-C は単剤で延命効果が得られ、また micafungin と併用することで薬剤濃度依存的に組織内の生菌数を下げる事でさらに長期の延命効果が得られた。

(論文審査の結果の要旨)

深在性真菌症は、血液を含む体内各臓器に *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* 属などの真菌が感染することによって生じる疾患である。近年開発されたキャンディン系抗真菌剤の *micafungin*, *caspofungin*, *anidulafungin* は、真菌細胞壁の構成要素である  $\beta$ -1,3-glucan 合成酵素を阻害し、副作用、薬物相互作用の比較的少ない薬剤であるが、*Candida* 属に対しては強い殺菌作用を有するのに対して、*Aspergillus* 属に対しては静菌的な作用にとどまり、*Cryptococcus* 属、*Trichosporon* 属、*Rhizopus* 属などの病原真菌には作用しないという課題があり、新たな治療薬の開発が望まれていた。本研究は、*Aspergillus fumigatus* に抗真菌作用を有する新規な抗真菌物質の探索を行い、以下のような価値ある新規な知見をえている。

1) 自然界から単離したカビ、放線菌、バクテリアの培養上清を *A. fumigatus* に作用させ、その菌糸の形態変化を観察することで、新規な抗真菌物質 KB425796-A とそれを生産する *Paenibacillus* 属 530603 株を発見した。

2) 530603 株培養上清から KB425796-A を単離するとともに、HR-LC/MS 分析、NMR 分析により、その構造が 12 アミノ酸と脂肪酸側鎖からなる環状リポペプチドラクトン構造であると同定した。

3) KB425796-A の抗真菌スペクトルを調べ、*Aspergillus* 属の他に *micafungin* 耐性である *Cryptococcus* 属、*Trichosporon* 属、*Rhizopus* 属、*Pseudallescheria* 属に対する抗真菌活性を明らかにした。

4) さらに、KB425796-A と同じ作用をもつ類縁体 KB425796-B~K を単離し、その抗真菌活性評価を行うことにより、KB425796-A より 2 倍の抗 *A. fumigatus* 活性をもつ KB425796-C を見出した。

5) KB425796-A, C と *micafungin* はいずれも *A. fumigatus* の菌糸の正常な伸長を阻害する作用を示したが、KB425796-C と *micafungin* の併用により、強力な相乗作用が示され、殺菌作用が得られることを示した。

6) *A. fumigatus* 全身感染マウスモデルにおいて KB425796-C は単剤で延命効果を示すとともに、*micafungin* と併用することでさらに長期の延命効果が得られることを明らかにした。

以上、深在性真菌症に対する新たな治療薬を開発するために、自然界から *A. fumigatus* に活性を示す新規な環状リポペプチドラクトンを単離同定するとともに、その薬理活性を明らかにした。さらに、全身感染マウスモデルを用いた有効性を明らかにしたこれらの知見は、天然物化学、深在性真菌症治療薬開発に貢献するところが大きい。

なお、本論文は、薬物開発において重要な生命科学に関する高度で幅広い学識と、申請者の優れた研究能力に裏打ちされ、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見を論理的かつ一貫性をもって記述しており、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成26年10月1日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日