

氏 名 小 林 恒 夫
 学位(専攻分野) 博 士 (農 学)
 学 位 記 番 号 論 農 博 第 2274 号
 学位授与の日付 平 成 11 年 11 月 24 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 ウラシル関連化合物の抗ニワトリコクシジウム活性に関する研究

論文調査委員 (主 査)
 教 授 矢 野 秀 雄 教 授 宮 本 元 教 授 今 井 裕

論 文 内 容 の 要 旨

ニワトリコクシジウム症は多数羽飼育に適した床面飼育を続ける限り必ず問題になる疾病で、消毒あるいはワクチンがいずれも有効でないため、抗コクシジウム剤による予防が必須となっている。一方、抗コクシジウム剤は化学療法剤の宿命といわれる広汎な使用に伴う耐性化が避けられず、常に使用機作の異なる新しい薬剤の開発が強く求められている。本研究は、抗コクシジウム剤の探索研究において、ウラシル類縁体のエミマイシンならびに6-アザウラシル、ならびにそれらの誘導体に着目し、その抗コクシジウム活性を明らかにするとともに、その作用性について検討したものである。本論文は7章より構成されている。

第1章では緒論が述べられ、従来の抗コクシジウム剤の研究開発状況が総説されている。

第2章ではオロチン酸類縁体と考えられる1,6-dihydro-6-oxo-2-pyrazinecarboxylic acid 4-oxide (カルボキシエミマイシン) の抗コクシジウム活性をバッテリー試験ならびに培養細胞を用いた in vitro 試験で調べている。カルボキシエミマイシンは、飼料中に 125 ppm 以上の濃度で添加投与することにより、*E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina* および *E. maxima* に対して顕著な抗コクシジウム活性を示し、広い抗コクシジウムスペクトラムを有するとともに、*E. tenella* の生活環の第1代および第2代シゾゴニー期の原虫ならびにガメートゴニー期の原虫に作用し、コクシジウムの生活環の広い範囲に活性を示すことを明らかにした。さらに、有効量の8倍の1000 ppm 添加投与してもヒナの増体に影響はなく、作用性ならびに安全性の観点から抗コクシジウム剤として優れた性質を持つとし、新しい作用機作を持つ薬剤開発のリード化合物として有用であると考察している。

第3章ではウリジン類縁体1-(β-D-ribofuranosyl)-2-(1H)-pyrazinon 4-oxide (エミマイシンリボシド) の抗コクシジウム活性について調べている。エミマイシンリボシドは飼料中16 ppm 以上の添加投与で *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina*, *E. maxima* および *E. burunetti* に対して顕著な抗コクシジウム活性を示し、その活性強度がウラシル類縁体エミマイシンの20倍に相当することを明らかにした。

第4章ではウラシル類縁体と考えられている6-アザウラシルの抗コクシジウム活性がコクシジウムの種類により大きく異なり、作出した6-アザウラシル耐性株を用いてウリジン類縁体のエミマイシンリボシドと耐性交差することを明らかにした。さらに、6-アザウラシルのヌクレオシドである6-アザウリジンが抗コクシジウム活性を示さないことを明らかにし、6-アザウラシルはむしろオロチン酸類縁体としての性質を有していると考察している。

第5章ではバッテリー試験ならびに鶏腎細胞を用いた in vitro 試験で6-アザウラシルの抗コクシジウム活性に対する核酸前駆物質の拮抗作用について検討している。オロチン酸、ウラシル、オロチジンおよびウリジンが用量相関的に6-アザウラシルの抗コクシジウム活性を低下させ、オロチン酸、ウラシルに比べて、それらのヌクレオシドの方がより強い拮抗現象を示す傾向を明らかにした。これらの核酸前駆物質による拮抗現象は、6-アザウラシルの抗コクシジウム作用がピリミジン核酸の合成阻害によることを示唆するとともに、コクシジウム原虫がこれらのピリミジンを取り込み、利用する能力を有すると考察している。

第6章では6-アザウラシルの誘導体であるジクラズリルの抗コクシジウム活性の特徴をバッテリー試験で検討している。

ジクラズリルが飼料中 0.1 ppm 添加投与で優れた抗コクシジウム活性を示すことを確認し、その活性がウラシル、オロチン酸などのピリミジン核酸前駆物質の影響を受けず、uridine 5'-diphosphoglucose およびそのアセチルアミン体により低下することを明らかにした。さらに、新たに作出したジクラズリル耐性株ならびに 6-アザウラシル耐性株を用いて両薬剤が耐性交差しないことを明らかにし、ジクラズリルの抗コクシジウム活性は 6-アザウラシルのそれとは異なり、糖代謝阻害によるものと考察している。

第 7 章では、本研究全体を総括している。

論文審査の結果の要旨

鶏の飼育においては薬剤によるコクシジウムの予防が必須であるが、耐性化の問題から、常に新しい作用機序をもつ薬剤の開発が求められている。本論文は、ウラシル類縁体のエミマイシンと 6-アザウラシル、ならびにそれらの誘導体の抗コクシジウム活性を明らかにするとともに、その作用性について検討したものであり、評価される点は以下のとおりである。

1. オロチン酸類縁体の 1,6-dihydro-6-oxo-2-pyrazinecarboxylic acid 4-oxide (カルボキシエミマイシン) が優れた抗コクシジウム活性と広い抗コクシジウムスペクトラムを有し、かつ安全幅の広いことを明らかにし、既存薬とは異なる作用機序を持つ薬剤探索のためのリード化合物を見出した。

2. ウリジン類縁体 1-(β -D-ribofuranosyl)-2 (1H)-pyrazinone 4-oxide (エミマイシンリボシド) がエミマイシンの 20 倍の活性を持つことを明らかにした。このことはヌクレオシドの方が原虫に取り込まれやすいことを示唆するものであり、核酸関連化合物の活性強化手法としてのヌクレオシド化の有用性を示唆するものである。

3. ウラシル類縁体と考えられている 6-アザウラシルの抗コクシジウム活性を明らかにし、その耐性株を作出してウリジン類縁体のエミマイシンリボシドと耐性交差しないことを確認した。さらに 6-アザウラシルのヌクレオシドの 6-アザウリジンには抗コクシジウム活性のないことを明らかにし、6-アザウラシルはむしろオロチン酸類縁体としての性質を有すると推察した。

4. 6-アザウラシルの抗コクシジウム活性がオロチン酸、ウラシル、オロチジン、およびウリジンと用量相関的に拮抗することを明らかにした。また 6-アザウラシルの抗コクシジウム活性がピリミジン核酸の合成阻害によることを示すとともに、コクシジウム原虫はこれらのピリミジン核酸を取り込み、利用する能力を有すると推察した。

5. 6-アザウラシル誘導体のジクラズリルの優れた抗コクシジウム活性を確認し、その活性がウラシル、オロチン酸などのピリミジン核酸の影響を受けず、uridine 5'-diphosphoglucose およびそのアミン体により低下することを示した。またジクラズリルは 6-アザウラシルとは耐性交差しないことを明らかにし、ジクラズリルの作用が糖代謝阻害によることを強く示唆した。

以上のように本論文は、ウラシル関連化合物の抗コクシジウム活性について多くの新知見を得たものであり、抗コクシジウム剤の探索研究、動物栄養学ならびに飼料学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 11 年 10 月 21 日、論文なら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。