

氏 名 劉 美華

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 3854 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 3 項該当)

学位論文の題目 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に対してノルフロキサシンの抗菌効果を増強させるローレルの成分に関する研究

論文審査委員 教授 土屋 友房 教授 岡本 敬の介 教授 波多野 力
教授 三好 伸一

学位論文内容の要旨

近年、医療現場において深刻な問題となっていることの一つに、薬剤耐性菌による院内感染が挙げられる。薬剤耐性菌による院内感染は、治療に用いることのできる抗菌薬の種類が限定されるため、治療期間が長期化したり、治療自体が困難であったりする。このように、薬剤耐性菌による感染症は抗菌薬による治療が困難なため、新たな治療薬や治療法が求められている。

そこで、私たちの研究室では、耐性菌問題を克服することを目指して、耐性菌に有効な新規抗菌物質の開発研究や、既存の抗菌薬と併用することにより耐性菌に対してその抗菌薬の効力を増強させる物質の開発研究を行っている。そのような医薬品が開発できれば、耐性菌による感染症の治療に用いることのできる抗菌薬の幅が広がることになる。

このような研究の過程で、ローレルあるいは月桂樹として知られる *Laurus nobilis* L (Lauraceae) の葉に、代表的な多剤耐性菌である MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) に対して強い抗菌活性を示す物質が含まれていることが明らかにされた。さらに興味深いことに、ローレルの抽出物中に、MRSA に対してノルフロキサシンの抗菌活性を大きく増強する物質が含まれていることが明らかにされた。キノロン薬は極めて優れた抗菌薬として感染症の治療に広く使われているものであるが、近年キノロン耐性菌が増えている。フルオロキノロンはもともと黄色ブドウ球菌には極めて有効であった抗菌薬であるが、多くの場合 MRSA 感染症に対しては効果がない。

このような状況のもとで、私はローレル中に含まれる「ノルフロキサシンの抗菌力増強物質」の単離・精製を行った。有効成分として 2 つの物質が得られたが、それらは、共同研究者により抗 MRSA 物質として単離・精製・同定された物質 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) であることがわかった。C2 と C3 をそれら自身の MIC (Minimum Inhibitory Concentration) の 1/8 の濃度で使用してキノロン薬と併用したところ、親水性キノロンは抗菌活性が増強されたが、疎水性キノロンに対しては効果がなかった。

次に、MRSA である *S. aureus* N315 株から C2 耐性変異株 (NC23) を分離した。この NC23 株における C2, C3 の MIC は 4 倍上昇していた。C2, C3 を MIC の 1/8 の濃度で使用し、NC23 株に対するノルフロキサシンとの併用効果を測定したところ、親株である *S. aureus* N315 の場合と同様に相乗的効果を示した。ただし、NC23 株を用い、親株 *S. aureus* N315 における MIC の 1/8 濃度 (NC23 株における MIC の 1/32 に相当) で C2, C3 をノルフロキサシンと併用させた場合、相乗効果は示さなかった。これらの結果から、C2, C3 の primary target に対する親和性が低下しているものと考えられる。

C2 と C3 は、強い抗 MRSA 活性と親水性キノロンの抗 MRSA 活性増強作用を示す。このことから、C2 と C3 は優れた抗 MRSA 薬のリード化合物となるであろう。

論文審査結果の要旨

抗菌薬を使い続けると、その抗菌薬が効かなくなった耐性菌が出現し、拡大する。現在の医療現場では、薬剤耐性菌による感染症が大き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 MRSA に対してノルフロキサシンの抗菌効果を増強する活性を持つ物質が存在することを見出し（共同研究）、活性物質を2つ単離・精製した。結局それらの物質は、共同研究者により抗 MRSA 物質として単離・精製され、構造が明らかにされた2つの物質と同じ物質（C 2, C 3と呼ぶ）であることがわかった。それらの物質について、他の細菌、他の抗菌薬でも効力増強効果が見られるかどうか調べたが、MRSA とノルフロキサシンに特徴的な作用であることがわかった。キノロン薬のうちでは、親水性キノロンに対して効果が強いことがわかった。また、その増強効果は相乗効果であることがわかった。共同研究者の解析から、C 2とC 3の作用点は topoisomerase IV の ParE サブユニットであると考えられている。このこと考え合わせ、topoisomerase IV の ParC サブユニットに作用するノルフロキサシンと、topoisomerase IV の ParE サブユニットに作用するC 2, C 3の間で相乗効果が現れるものと推論している。

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。