

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 藤江 昭彦

深在性真菌症は、*Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* などの真菌が体内各臓器に感染しておこす疾患で、近年、臨床における増加と重篤化が大きな問題になっている。現在認可されている治療薬は、amphotericin B、5-fluorocytosine、アゾール系化合物の miconazole、fluconazole、itraconazole の 5 薬剤のみで、それぞれ副作用、低い選択性、大量使用による耐性菌の増大が問題になり、新薬の出現が強く望まれている。真菌はヒトと同じ真核生物で、選択毒性が期待される作用部位は限られている。唯一大きな相違点である細胞壁、特に 1,3- $\beta$ -グルカンには有望な標的であるが、これまで実用的な薬効を持つものはほとんどなかった。申請者は、1,3- $\beta$ -グルカン合成酵素阻害活性を指標とした高感度探索系で、新物質 FR901469 を発見した。本論文は、探索系構築から生産菌の性状、培養、精製、構造解析、生物活性に関する研究をまとめたもので 5 章からなっている。

抗真菌剤研究の状況と課題を概観した序論に続く第一章では探索系について述べられている。echinocandin 様抗真菌化合物 FR131535 の作用機作研究で、高分子合成系および細胞壁合成系酵素に及ぼす影響を調べ、これが 1,3- $\beta$ -グルカン合成酵素を阻害することを明らかにした。ここで開発した活性測定法を使い、微生物代謝産物から 1,3- $\beta$ -グルカン合成酵素阻害活性物質の探索を行った。カビ、放線菌、バクテリアの培養物約 1 万検体を探索し、カビ No.11243 株の培養液中に新規物質 FR901469 を見いだした。

第二章では生産菌の性状が述べられている。FR901469 生産菌 No.11243 株は、京都府綾部市で採取した落葉試料から分離した。栄養菌糸は、平滑で隔壁を有し、透明で分岐していた。菌糸細胞は円形型で、幅は 1~4 $\mu$ m であった。本菌株は各種培地上できわめて抑制的に広がり、淡オレンジ色の集落を形成した。7-29 $^{\circ}$ C で生育可能で、最適生育温度は 22-26 $^{\circ}$ C であった。真菌の分類基準である生殖器官および典型的な分生子構造は各種寒天培地上で観察されなかった。

第三章では培養生産と単離精製が述べられている。ジャーファーメンターでカビ No.11243 株を培養し、培養液 75L から活性物質をアセトンで抽出し、HP20、逆相クロマトグラフィーにより精製し、FR901469 の白色粉末 72mg を単離した。本物質の生産について検討した結果、培養時の培養液粘度を抑制する生産用培地と UV による菌株改良により、培養液あたり 10 $\mu$ g/ml であった生産量を約 800 $\mu$ g/ml にまで増大できた。

第四章では物理化学的性質と構造解析について述べられている。FR901469 は、12 個のアミノ酸残基と 1 個の 3-hydroxypalmitoyl 基よりなる新規な 40 員環 macrocyclic

lipopeptidolactone であった。分子量は 1532、分子式は HRFAB-MS により  $C_{71}H_{116}N_{14}O_{23}$  と決定した。水に対する溶解性は 400mg/ml 以上と大変良好であった。

第五章では生物活性を *in vitro* および *in vivo* で検討した結果が述べられている。FR901469 の 1,3- $\beta$ -グルカン合成酵素阻害活性は  $IC_{50}$  値  $0.05 \mu\text{g/ml}$  と、既存の天然物化合物より強力であった。*In vitro* においては、*Candida* 属 *Aspergillus* 属に対して強い抗菌力を示したが、*Cryptococcus* 属には抗菌活性を示さなかった。*C.albicans* および *A.fumigatus* によるマウス全身感染モデルにおいて、それぞれ皮下  $0.32 \sim 0.63 \text{mg/kg}$ 、 $0.5 \text{mg/kg}$  の低投与量で延命効果を示した。また、*P.carinii* のヌードマウスカリニ肺炎感染モデルにおいても、 $10 \text{mg/kg}$  の皮下投与で肺シスト数を 99.98%減少させ著しい治療効果を示した。一方、毒性面では  $250 \text{mg/kg}$  をマウスに投与しても死亡例はなく、echinocandin 様リポペプチド天然物で問題になる溶血作用も弱かった。

以上、本論文は、微生物代謝産物の探索から、1,3- $\beta$ -グルカン合成酵素阻害活性をもち、*in vivo* 動物感染モデルにおいて強い真菌治療効果を示す FR901469 を取得し、その特性について詳細で新たな知見を明らかにしたものであり、学術上・応用上貢献するところが少ない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。