

〔別紙2〕

審査の結果の要旨

氏名 アトミカパウデル

Mechanistic analysis of novel therapeutically effective antimicrobial agents identified using silkworm bacterial infection model（邦題：カイコ細菌感染モデルを用いて同定された治療効果を示す新規抗菌薬の機能解析）と題する本論文は、現在、臨床上問題となっている多剤耐性菌に有効な新規治療薬の探索法の確立を行い、及びそれによって得られた化合物の作用機序解析における研究の成果を論じたものである。多剤耐性菌に有効な新規治療薬の開発において、**High Throughput Screening(HTS)**等による試験管内での抗菌活性を指標とした従来の探索では、標的特異的な化合物を取得が困難であることが示されており、新規な手法による治療効果を示す抗菌薬の探索法の確立が重要とされている。また、得られた化合物の標的の同定は、より高い活性を有する抗菌化合物の創出、及び臨床における抗菌薬の位置づけを決定する際に重要となる。

本論文の主要な部分は三章から構成され、第一章ではカイコ黄色ブドウ球菌感染モデルを利用した治療効果を示す新規抗菌薬の同定、及び抗菌特性について、第二章ではそれらの黄色ブドウ球菌における標的解析を含めた作用機序解析について、第三章では有機合成展開された2つの新規抗菌化合物の同定、及び黄色ブドウ球菌に対する作用を論じている。

論文のイントロダクションにおいては、これまでの抗菌薬開発における問題点が指摘され、治療効果を有する抗菌薬開発の重要性、及びそのためのアプローチとしてカイコ細菌感染モデルを用いた探索手法の確立の有用性が述べられている。

第一章の前半では、博士課程以前にカイコ黄色ブドウ球菌感染モデルにおきり治療効果を指標とした探索において見いだしていた、土壌細菌が生産する新規抗生物質カイコシンについて、その構造解析の結果、リポペプチド系の新規構造を有する抗菌化合物であることを報告している。また、カイコシンの抗菌スペクトラムは多剤耐性菌を含む黄色ブドウ球菌やバチラス等のグラム陽性菌の一部に有効であること、及びマウスの黄色ブドウ球菌感染モデルにおいてバンコマイシンに比べても良好な治療効果を示すことを明らかにしている。さらに、カイコシンの黄色ブドウ球菌に対する作用は、膜障害性を伴う殺菌的作用であることを見いだした。後半では、カイコ黄色ブドウ球菌感染モデルを利用した治療効果を指標とした探索により、化合物ライブラリーから3つの化合物が得られたことを報告し、最も治療成績が良かった化合物 363 について、抗菌スペクトラムが多剤耐性菌を含むグラム陽性細菌の一部の菌に有効であること、及び、マウスモデルにおいても治療効果を示すことを明らかにしている。さらに、黄色ブドウ球菌

に対する作用として、RNA 合成を阻害すること、及び静菌的効果を示すことを見いだしている。

第二章では、それぞれの化合物について作用メカニズムの解析を行っている。前半では、カイコシン E に対する薬剤耐性、温度感受性変異株を取得し、その温度感受性を示す変異遺伝子がメナキノン合成経路に存在することが示され、カイコシン E とメナキノンとの混合により沈殿が生じ、さらにカイコシン E の活性がメナキノンによって阻害されることが示された。従って、これらの結果から、カイコシン E の標的は細胞膜中のメナキノンであり、新規の抗菌活性発揮メカニズムであることが示唆された。また、メナキロンは細菌の呼吸基質として利用されるが、哺乳動物においてはユビキノロンが利用され、メナキノンとは構造が異なるため、マウスモデルにおいて毒性を示さないのではないかと議論されている。後半では、化合物 363 についてその耐性株を取得し、遺伝子変異を次世代シーケンサーによって解析している。その結果、異なる二株の耐性変異株から共通してハウスキーピング遺伝子の転写因子である *sigB* 遺伝子に変異が認められている。遺伝学的な解析により、薬剤耐性ととの相関が示されており、*sigB* 遺伝子の変異が化合物 363 に対する耐性遺伝子であると考えられ、化合物 363 が RNA 合成を阻害する事象と矛盾しない。

第三章では、化合物ライブラリーより抗菌活性を指標として探索され、見いだされた 2 つの新規抗菌化合物について、構造と抗菌活性の相関について解析を行っている。前半では、deoxyribofuranosyl indole 化合物について、後半では imino-thaidiazolo-pyrimidinone 化合物について解析を行っている。どちらの化合物においても、母核は同じにもかかわらず修飾によって、黄色ブドウ球菌に対する作用が殺菌的であったものが、静菌的なものに変化したりなどの、構造活性相関の結果が述べられている。

以上の研究によって、カイコ細菌感染モデルを用いた、天然物及び有機合成化合物のライブラリーからの探索によって、治療効果を有する 2 つの新規抗菌化合物が見いだされ、それらの作用メカニズムについて明らかにされた。従って、カイコ細菌感染モデルを利用した治療効果を指標とした抗菌治療薬の探索系の有用性が示されたと考えられる。さらに、得られた治療効果を有する 2 つの化合物の作用機序は、既存の抗菌薬にはない全く新しいものであると考えられることから、新しいクラスの抗菌剤としての臨床応用が期待される。細菌感染治療薬は、多剤耐性菌の出現によって既存の抗菌薬による治療が困難である症例が問題となっており、新しい作用メカニズムに基づく、新規構造の治療薬の開発が急務となっている。本研究の成果は、新規感染症治療薬開発において重要な貢献を果たしていることから、この研究を行ったアトミカパウデルは博士(薬学)の学位を与えるのに相応しいと判断した。