



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

魚病菌 *Pasuteurella piscicida* に有効な
Azicemicin群並びに
Tetrodecamycin群新規抗生物質に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 土田, 外志夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2249

氏名（本籍）	土田 外志夫（富山県）
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	農博乙第4号
学位授与年月日	平成8年3月14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	魚病菌 <i>Pasteurella piscicida</i> に有効な Azicemicin群並びに Tetrodecamycin群新規抗生 物質に関する研究
審査委員	主査 静岡大学 教授 岡部 満 康 副査 信州大学 教授 寄藤 高光 副査 岐阜大学 教授 河合 啓一 副査 静岡大学 教授 衛藤 英男 副査 静岡大学 教授 田原 康孝

論文の内容の要旨

養殖産業の規模並びに量の拡大に伴い、種々の魚病が発生し養殖産業に大きな被害を与えている。養殖ブリに発生する類結節症は、その魚病の一つでありその病原菌はグラム陰性菌に属する *P. piscicida* である。この類結節症の治療薬として既知抗菌剤が利用されているが、耐性菌が出現しており新しい薬剤の開発が強く望まれている。また、この魚病菌 *P. piscicida* を被検菌とした微生物培養液からの探索研究は現在まで報告されておらず、このスクリーニングは大変興味を持たれた。

本論文は、魚病菌 *P. piscicida* を被検菌とした微生物培養液からの探索研究を行った結果、新規構造を有する抗生物質アジセミン群及びテトロデカマイシン群を発見し、それらの構造決定を行い、さらに誘導体の合成とその有用性について検討したものを7章にわたって、まとめたものである。

第1章では、前記スクリーニングにおいて最初に発見されたアジセミン群の生産菌を *Amycolatopsis* sp. MJ126-NF4株と同定し、また、単離精製方法を確立した。第2章では、理化学的性質を調べ各種NMRスペクトルの解析を行い構造構築を試みたが、孤

立したプロトンが多く構造決定まで至らなかった。そこで、メチル誘導体及びシリル誘導体を合成して全構造決定を行った。その結果、アジセミンはアジリジン環とクロモマイシン様クロモフォアを有した新しいタイプの抗生物質であることを示した。第3章では、アジセミン群の生物活性について調べ、*P. piscicida*に対する抗菌活性が弱いことを明らかにした。さらに、他の抗菌活性をも検討しアジセミンBの各種薬剤に耐性を示す結核の病原菌である抗酸性菌に対する有効性を認めた。第4章では、次に見出したテトロデカマイシン群の生産菌を*Streptomyces nashvillensis* MJ885-mF8株と同定し、また、その単離精製方法を確立した。第5章では、テトロデカマイシン群の構造をテトロデカマイシンと14-O-アセチル誘導体の各種NMRスペクトルの解析よりデカリン環とアシルテロン酸アルキルエーテル部を含んだユニークな構造であることを明らかにした。それらの相対構造は、X線結晶解析により決定し、さらに、絶対構造はNew Mosher法を適用し決定した。第6章では、テトロデカマイシンの生物活性を調べたが、魚病菌*P. piscicida*(13株)に対しMICが1.56~6.25 mg/mlと低い値を示し、かつマウス及びヒメダカに対する急性毒性が低いことから感染治療の検討を行なった。その結果、モジャコに対する類結節症治療実験ではテトロデカマイシンの治療効果は認められなかったが、誘導体化により有用物質が得られる可能性を示唆した。第7章では、テトロデカマイシンの魚病菌*P. piscicida*の抗菌活性を増強させる目的で14-O-誘導体及びエキソメチレン修飾体を合成し、それらの構造活性相関を検討した。エキソメチレン修飾体は、グラム陽性菌に対する活性は低下したが*P. piscicida*に対し母核と同等の活性を示した。4(R),5-及び4(S),5-ジプロモ体の絶対構造を4(R)体のX線結晶解析により決定し、4位の立体配置による*P. piscicida*に対する活性を調べた結果、4(S)体が4(R)体より2~3倍強く、母核より約2倍優れていることを明らかにした。14-O-誘導体は、*P. piscicida*に対する活性は低下したが、MRSAを含むグラム陽性菌に対する活性の向上を確認した。その14-O-誘導体では、14-O-アシル体>14-O-アルキル体>14-O-カルバモイル体の順に強い活性を示し、特に14-O-(2-ナフトイル)体は母核の約10倍の活性を示した。また、14-O-(2-ナフトレン)メチル体は母核が100mg/mlでも活性を示さなかった魚の連鎖球菌症の病原菌*Enterococcus seriolicida*に対して活性が著しく増強した。

以上、魚病菌*P. piscicida*の生育阻止作用を指標に探索を行い2種の新規骨核を有する4つの抗生物質を発見し、それらの構造を決定すると共に生物活性を調べた。さらに、テトロデカマイシンの誘導体を合成し構造活性相関を調べ、4(S),5-ジブromo体が*P. piscicida*に対し母核と比較し活性の向上を示した。アジセミシンとテトロデカマイシンの関連化合物において、魚の類結節症及び連鎖球菌症並びにMRSA及び薬剤耐性抗酸性菌症などの治療薬としての可能性を示した。

審 査 結 果 の 要 旨

学位申請者、土田外志夫の学位論文審査が平成8年1月26日(月)に静岡大学農学部にて行われた。同日午前10時より2時間外国語筆記試験を実施した後、午後14時より公開学位論文発表会を開催した。同発表会には審査委員全員(5名)と大学院生、学部学生など合わせて30名が参加した。学位申請者による40分間の口頭発表が行われた後、質疑応答(口頭試問)が30分間行われた。その後、学位論文審査委員会を開催し、外国語筆記試験の採点ならびに学位論文の審査を行った。

本論文は、水産養殖において重要な魚類の一つである養殖ブリ(ハマチ)に発生する類結節症の魚病菌*Pasteurella piscicida*に対し有効な物質を微生物培養液よりスクリーニングし、新規構造を有する2種の抗生物質アジセミシンA及びB並びにテトロデカマイシン及びジヒドロテトロデカマイシンを発見し、類結節症に対する治療薬としての可能性について検討したものである。前記スクリーニングにおいて最初に発見されたアジセミシン群の生産菌を*Amycolatopsis* sp. MJ126-NF4株と同定し、また、本物質群の単離精製方法を確立した。メチル誘導体及びシリル誘導体を合成することによりアジセミシンの全構造決定を行い、アジセミシンはアジリジン環とクロモマイシン様クロモフォアを有した新しいタイプの抗生物質であることを示した。ついで、アジセミシン群の生物活性について調べたが、*P. piscicida*に対する抗菌活性は弱かった。そこで、さらに抗菌活性の強い物質のスクリーニングをおこない、テトロデカマイシン群物質の生産菌*Streptomyces nashvillensis* MJ885-mF8株を見出した。本テトロデカマイシン群がデカリン環とアシルテロン酸アルキルエーテル部を含んだユニークな構造であることを明らかにした。次いで、テトロデカマイシンが魚病菌*P. piscicida*(13株)に対しMIC

が1.56~6.25 mg/mlと低い値を示した上、マウス及びヒメダカに対する急性毒性が低いことから感染治療実験を試みた。その結果、モジャコに対する類結節症治療実験ではテトロデカマイシンの治療効果は認められなかった。さらにMICを改善すべく、14-O-誘導体及びエキソメチレン修飾体を合成し、それらの構造活性相関を検討した。その誘導体の一つである4(S)-ジブプロモ体の*P. piscicida*に対する活性が4(R)-ジブプロモ体より2~3倍強く、母核より約2倍優れていることを明らかにした。また、14-O-誘導体の*P. piscicida*に対する活性は低下したが、MRSAを含むグラム陽性菌に対する活性は向上した。その14-O-誘導体では、特に14-O-(2-ナフトイル)体は母核の約10倍の活性を示した。

また、14-O-(2-ナフトレン)メチル体は母核100mg/mlでも活性を示さなかった魚の連鎖球菌症の病原菌*Enterococcus seriolocida*に対して活性が著しく増強した。

以上のように、魚病菌*P. piscicida*の生育阻止作用を指標に探索を行い2種の新規母核を有する4つの抗生物質を発見し、それらの構造を決定すると共に生物活性を調べ、化学構造と*P. piscicida*に対する抗菌活性との間の相関関係を明らかにし、今後の新規誘導体開発への指針を得た。また、アジセミンとテトロデカマイシンの関連化合物の、魚の類結節症以外の治療薬としての可能性を示唆した。

本論文発表後、質疑応答が行われ、次のような質問または意見が出された。1) 抗生物質を魚餌として与えることの水圏環境ならびにそれを食べた人に与える影響、2) 投与量が非常に多い事の是非、3) スクリーニングに使用した菌株*P. piscicida*の分類学的位置、4) テトロデカリンの作用機作。これらに対して申請者は極めて的確に回答した。

その後、行われた審査委員による審議の結果、ブリの類結節症に対する治療薬として期待される、新規母核を有する2つの抗生物質群を発見した事、口頭試問において極めて的確に回答した事、また外国語筆記試験で合格したこと等をも合わせて考慮し、本論文を博士(農学)の学位を授与するに値する学識と経験を有するものと判断し、審査委員全員一致で「合格」と判定した。