



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the antibacterial activity of novel fluoroquinolones against quinolone resistant Salmonella Typhimurium [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	小出, 健太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第13820号
Issue Date	2019-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/76583
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kentaro_KOIDE_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：小出 健太郎

審査委員	主査	教授	鈴木	定彦
	副査	教授	伊藤	公人
	副査	特任准教授	磯田	典和
	副査	准教授	中島	千絵

学位論文題名

Studies on the antibacterial activity of novel fluoroquinolones against quinolone resistant *Salmonella* Typhimurium

（キノロン耐性 *Salmonella* Typhimurium に対する新規フルオロキノロンの抗菌作用に関する研究）

非チフス性サルモネラ属菌は家畜や家禽の腸管に保菌されており、食品を介してヒトに感染する。年間の感染者数は約 9,400 万人、死亡者数は約 15 万 5 千人と推定されており、公衆衛生上非常に大きな問題である。非チフス性サルモネラ属菌の中でも *Salmonella* Typhimurium、並びに *Salmonella* Enteritidis は食中毒の原因菌として世界各国で頻繁に報告されている。これまで治療薬としてアンピシリン、並びにクロラムフェニコールなどが使用されてきたが、これらの抗菌薬に対して耐性を示す菌株が多く見つかっている。キノロンはこれらに対しても効果的である為に重要視されてきたが、近年キノロン耐性サルモネラ菌が世界的に増加傾向にあり、対策が急務となっている。

キノロンは細菌の複製に関わる酵素 DNA ジャイレースを阻害することで殺菌的作用を示す抗菌薬である。DNA ジャイレースは、DNA 複製時の DNA 二重鎖開裂によって細菌 DNA に生じる捻れを解消する、DNA 複製に必須の酵素の 1 つである。DNA ジャイレースは GyrA および GyrB の 2 種のサブユニット 2 組からなる四量体を形成しており、キノロンは GyrA と GyrB に囲まれた部位に結合することで DNA ジャイレースの働きを阻害する。そのため、DNA ジャイレース上のキノロン結合部位周辺にアミノ酸置換が生じることでキノロン耐性が付与される。多キノロン耐性菌株を用いた研究から、特に GyrA 上の 83 番目のセリン、並びに 87 番目のアスパラギン酸の置換が重要である事が明らかとなっている。係る状況においては、アミノ酸置換を含む DNA ジャイレースに対しても高い酵素活性阻害作用をもつ新たなキノロンがキノロン耐性菌の制御に必要となっている。

小出氏は、新規キノロンの DC-159a、並びに WQ-3810 に着目して、*S. Typhimurium* の DNA ジャイレースに対する直接的な阻害作用を解析し、キノロン耐性非チフス性サルモネラ属菌感染症の治療薬としての可能性を評価した。

第一章では、第一三共株式会社によって開発された DC-159a の酵素活性阻害作用および抗菌作用の評価を行った。DC-159a はこれまでに他の菌種に対して既存のキノロンよりも高い抗菌作用が確認されていることからキノロン耐性非チフス性サルモネラ属菌に対しても効果的であることが期待されるものであった。大腸菌を用いた組み換えタンパク質発現系によって *S. Typhimurium* が保有する DNA ジャイレースの GyrA および GyrB を作出した。GyrA は野生型に加えて、83 番目もしくは 87 番目のアミノ酸置換を含む単変異型 GyrA、およびその両方の位置にアミノ酸置換を含む二重変異型 GyrA を作出した。DC-159a が DNA ジャイレースの酵素活性を阻害する濃度をシプロフロキサシンおよびナリジクス酸と比較した結果、DC-159a がこれらのキノロンと比較して低濃度でアミノ酸置換を含むすべての変異型 DNA ジャイレースの活性を阻害することが明らかになった。また、*S. Typhimurium* 標準株に対する最小発育阻止濃度はシプロフロキサシンとほぼ等しい値を示し、変異型 DNA ジャイレースに対する阻害作用の差から DC-159a はシプロフロキサシンよりもキノロン耐性非チフス性サルモネラ属菌に効果的である可能性が明らかになった。

第二章では、湧永製薬株式会社によって開発された WQ-3810 を上述と同様の方法で評価した。WQ-3810 は前述の DC-159a およびその他のキノロンとはキノロン環の 1 位および 7 位の位置の側鎖構造が大きく異なる構造を持つ。DNA ジャイレースに対する阻害試験の結果、WQ-3810 はシプロフロキサシンおよびナリジクス酸よりも低濃度でアミノ酸置換を含む DNA ジャイレースの活性を阻害することが明らかとなった。さらに DC-159a の阻害作用と比較すると GyrA の 87 番目の位置にアミノ酸置換を含む DNA ジャイレースに対してより強い阻害作用を示すことが確認された。このことから、キノロン耐性菌が持つアミノ酸置換の位置によってより効果的なキノロン系抗菌薬を治療薬として選択できる可能性に加えて、キノロンの構造と阻害作用の相関に寄与する新たな知見を得た。

本学位論文を通じて、2 種の新規キノロンが、既存のキノロンに耐性の非チフス性サルモネラ属菌による感染症に対して有効な治療薬となる可能性が高いことが本研究によって明らかとなった。さらに、得られた情報が、新たなキノロンの開発ならびにキノロン耐性非チフス性サルモネラ属菌感染症の効果的な治療法確立に貢献することが期待された。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者小出健太郎氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。