

# 小林 奨 論文内容の要旨

## 主 論 文

Synergistic Antifungal Effect of Lactoferrin with Azole Antifungals against *Candida albicans* and a Proposal for a New Treatment Method for Invasive Candidiasis

(カンジダ アルビカンズに対するラクトフェリンとアゾール系抗真菌薬の相乗作用、そして侵襲性カンジダ症に対する新しい治療法の提案)

小林 奨、掛屋 弘、宮崎泰可、泉川公一、柳原克紀、大野秀明、山本善裕、  
田代隆良、河野 茂

(*Japanese Journal of Infectious Diseases*)  
[in press]

長崎大学大学院医学研究科 新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：河野 茂教授)

## 緒 言

カンジダ症は、最も臨床的に遭遇する頻度の高い深在性真菌症であり、異なる作用機序を有する数種の抗真菌薬が使用可能な現在でも死亡率は未だに30%以上と高い。このため侵襲性カンジダ症に対し、より効果的な治療法の開発が望まれている。ラクトフェリンは広い抗微生物活性を有する抗菌ペプチドとして知られている。アゾール系抗真菌薬であるフルコナゾールとラクトフェリンを併用することによって、*Candida albicans* の薬剤感受性を亢進させ、菌糸の発育を抑制するとの報告もある。この現象はアゾール耐性株においても見られるが、全ての耐性株で見られる現象ではない。今回我々は耐性機序が異なる数種の菌株を用いて、どのような菌株でアゾール系抗真菌薬とラクトフェリンの相乗作用がみられるかを明らかにし、その相乗作用のメカニズムについても明らかにすることを目的とした。

## 対象と方法

今回使用した菌株は抗真菌薬感受性の *C. albicans* の標準株 SC5314 株、排出ポンプ遺伝子の一種である *CDRI* 過剰発現変異株 C26 株 (アゾール耐性株)、同じく排出ポンプ遺伝子の一種の *CaMDR* 過剰発現変異株 C40 株 (アゾール耐性株)、細胞膜の構成成分であるエルゴステロール合成に関連した酵素を調整する遺伝子 *erg3* と *erg11* の変異株である Darlington 株 (アゾール耐性株)、実験的に作成した *erg3* 変異株 CAE3DU3 株 (アゾール耐性株) である。上記菌株に対し、国際標準法である液体微量希釈法 (CLSI M27 法) で薬剤感受性検査 (50%発育阻止濃度 (IC50)) を行った。使用した薬剤はアゾール系抗真菌薬のうち水溶性のフルコナゾールと脂溶性のイトラコナゾールの2薬剤。ラクトフェリンは Bovine lactoferrin を使用した。相乗作用のメカニズム解析に

関しては、培地中の鉄イオン濃度を変更し、ラクトフェリンの有する鉄イオンキレート作用が及ぼす影響について検討した。またトリチウムでラベリングされたフルコナゾールを用い菌体内への薬剤取り込み量を計測し、ラクトフェリンの薬剤排出ポンプへの影響について検討した。

## 結 果

ラクトフェリンとの併用でフルコナゾールの IC50 が低下したのはエルゴステロール変異株である Darlington 株と CAE3DU3 株のみで、その他の株ではフルコナゾール単独と同等であった。イトラコナゾールではラクトフェリンとの併用で、全ての株で IC50 の低下を認めた。ラクトフェリン単独では 6400  $\mu$ g/ml でも全ての株で発育阻止はみられなかった。また、十分量の鉄イオンを加えた培地では相乗作用が消失した。さらに菌体内への薬剤取り込み量は、ラクトフェリンを加えても増加しなかった。

## 考 察

ラクトフェリンを添加することによってフルコナゾールの IC50 が低下したのは 5,6-desaturase 遺伝子変異株でエルゴステロール生合成における変化を来した株のみであり、この菌株が膜変化をきたしている事に関連したものと考えられた。イトラコナゾールに関してはラクトフェリンが菌体表面の疎水性を強め、疎水物質間の相互作用が強まった事によると推察された。相乗作用のメカニズムに関してはラクトフェリンの鉄キレート作用と関連しており、薬剤排出ポンプ抑制による菌体内薬物濃度の上昇ではないことが示された。AIDS 患者の終末期には血中ラクトフェリン濃度が低下している事が知られており、ラクトフェリンとアゾール系抗真菌薬の併用が効果的な治療となる可能性が示唆された。