

AMEDの支援を受けて推進しつつある カルバペネマーゼ阻害剤の開発研究

A research project for developing carbapenemase inhibitors by the support of AMED

荒川 宜親¹

要 旨

カルバペネム系抗菌薬に耐性を獲得した各種のグラム陰性菌が世界各地の医療現場で増加し、それらの多くは、カルバペネム系以外の広範囲の抗菌薬にも多剤耐性を示し、ガン患者や高度医療を受ける患者の生命予後を脅かす大きな問題になっている。そこで、多剤耐性菌感染症の治療に有用な新規化合物の開発を、AMED（日本医療研究開発機構）の支援を受けて推進している。

キーワード：カルバペネム耐性菌，多剤耐性グラム陰性桿菌，メタロ-β-ラクタマーゼ，カルバペネマーゼ阻害剤

2021年12月2日受付，2021年12月9日受理

研究課題に係る背景

現在、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の世界的な蔓延（パンデミック）が大きな国際問題となっている。しかし、COVID-19のパンデミックが発生する以前には、多剤耐性菌の臨床現場における蔓延が、国際的に大きな関心事となって来たため、2015年の世界保健総会で、各国における薬剤耐性（AMR）アクションプランの策定が合意された。これを受けて、2016年の伊勢志摩サミットに向けて我が国でもAMRアクションプラン(1)が策定され、伊勢志摩サミットでは、薬剤耐性（AMR）問題の医学的、公衆衛生学的重要性が検討された。その結果、AMR問題が、各国が連携して緊急に解決すべき国際的に重要なリスクレベル「A-」の課題として再確認され、緊急の対策の必要性がサミット参加国首脳によ

り合意された。この合意に基づき、我が国では、抗菌薬の適正使用に関する指針なども発表され、ヒト医療のみならず畜水産現場などでの抗菌性物質の使用や規制も視野に入れた「One Health Approach」の観点に立った総合的なAMR対策(2)が政治課題として動き始めた。

研究動向

近年、臨床現場で問題となって来た新型の多剤耐性菌としては、多剤耐性*Acinetobacter*属菌（MDRA）やカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）などがある(3)。CREは当然であるが、MDRAもカルバペネムを含む広範囲の抗菌薬に耐性を示すことから、入院患者や術後患者などがそれらの多剤耐性菌による感染症を発症した際には、治療効果が期待できる抗菌薬が極めて限定されてしまい、特に多剤耐性菌による感染症を発症しやすいがん治療、高度医療や先端医療を受ける患者などにおいて現実的か

¹ 修文大学医療科学部臨床検査学科

つ深刻な脅威となっている。

私の研究グループは、1980年代より、薬剤耐性菌に関連する研究を継続して来たが、1991年に愛知県内の病院の入院患者より分離されたチエナム耐性の*Serratia marcescens*から、世界に先駆けてカルバペネムを分解するメタロ- β -ラクタマーゼ (MBL) であるIMP-1を発見した(4)。この発見は、現在、地球規模で大問題となっているCREの先駆けとなった。我々が1990年代にIMP-1を産生するチエナム耐性の*S. marcescens*や*Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)などを相次いで報告した後、欧州各地からもVIM型やGIM型などのMBLを産生する*P. aeruginosa*が報告され、また、南米からはSPM-1型MBLを産生する*P. aeruginosa*などが相次いで報告されるようになり、2000年代に入るとNDM-1と命名された新たなMBLを産生する*Klebsiella pneumoniae* (肺炎桿菌)や*Escherichia coli* (大腸菌)などのグラム陰性桿菌の世界的な蔓延が世界各地の医療現場で大きな懸念事項となってきた。

MBL産生菌感染症の克服

一連のMBLの遺伝子は、多くの場合、細菌間で接合伝達し拡散するプラスミド (伝達性プラスミド) により媒介されており、さらにMBLはペニシリン系からセフェム系、カルバペネム系に至る幅広い β -ラクタム系薬を効率よく分解する能力を持ち、加えて*Pseudomonas*属や*Acinetobacter*属の菌種のみならず、近年、*K. pneumoniae*や*E. coli*などの腸内細菌科細菌からもMBL産生菌が多数報告される深刻な事態となっている。

このような状況の中で、MBL産生菌の蔓延を克服し新たな治療法を確立するためには、MBLによって分解されない新たな抗菌薬を開発することが必要であるが、MBLは活性中心に亜鉛を持ち、強力に β -ラクタム環を加水分解してしまうメタロエンザイムであるため、MBLに分解されない新たな β -ラクタム系薬を

開発するのは技術的にも理論的にも困難となっている。そこで、私の研究グループは2000年頃よりMBL酵素そのものを阻害してしまう新たな化合物の探索と開発、実用化を構想してきた。その理由は、もし臨床的に有効なMBL阻害剤が実用化できれば、これまで開発された多くのセフェム系やカルバペネム系の抗菌薬の有用性が復活し、MBLを産生する多剤耐性菌感染症の治療に大きく貢献することが期待できると考えられたからである。

名古屋大学および修文大学での取組みと成果

私は、東日本大震災の直後の2011年に国立感染症研究所の部長職を辞して出身教室である名古屋大学の大学院医学系研究科分子病原細菌学の教授に着任した後、国内各地の医療現場で分離されるIMP型MBLを阻害する化合物の探索と開発に着手した。名古屋大学理学部の野依良治教授が2001年にノーベル賞を受賞した際に、文科省により「世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)」の1つとして名古屋大学に新たに設置された「トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM)：伊丹健一郎所長」の佐藤綾人特任准教授らと2015年より連携して、和知野純一 (現：修文大学特任准教授)、木村幸司 (現：名古屋大学大学院医学系研究科准教授)、黒崎博雅 (現：金城学院大学薬学部教授)、および金万春 (現：金城学院大学薬学部助教)らとともにMBL阻害化合物の探索を開始した。その結果、ITbMが保有する数万の化合物ライブラリーの中からフラン環にカルボキシル基とスルファモイル基が結合した構造の化合物 (2,5-dimethyl-4-sulfamoylfuran-3-carboxylic acid : SFC) が、IMP型MBLに対し阻害活性を示すことを発見した。その後、このSFCのMBL阻害活性をさらに強化し物性を改善するため種々の構造の化合物を設計し合成する中で、フラン環の代わりにピロール環を母格とする新規化合物 (2,5-diethyl-1-methyl-4-sulfamoylpyrrole-3-carboxylic acid : SPC) の開発に成功した(5)。

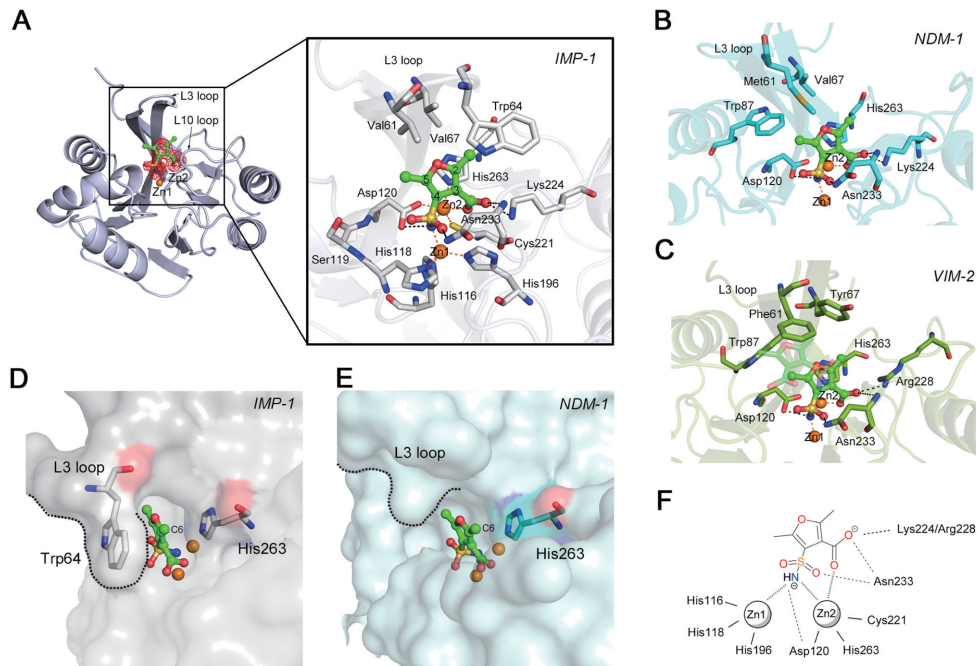


図 X線結晶構造解析に基づいて解明したIMP-1等の活性中心に対するSFC (2, 5-dimethyl-4-sulfamoylfuran-3-carboxylic acid) の結合様式

(参考文献5のFigure 3より転載)

Mode of MBL inhibition by SFC.

(A) Schematic representation of the overall structure of IMP-1 in complex with SFC and interactions between IMP-1 and SFC. The $|Fo|-|Fc|$ omit map of SFC, which was contoured at 3.0σ (red mesh), is shown. SFC is illustrated in green (carbon), ochre (sulfur), red (oxygen), and blue (nitrogen) sticks. The amino acids of IMP-1 are represented by silver sticks. Zinc ions are illustrated as orange spheres. Black and orange dashed lines indicate hydrogen and coordination bonds, respectively.

(B) Interactions between NDM-1 and SFC. The amino acids of NDM-1 are represented by cyan sticks. The SFC molecule is shown as described for panel A.

(C) Interactions between VIM-2 and SFC. The amino acids of VIM-2 are illustrated using deep-green-colored sticks. The SFC molecule is shown as described for panel A.

(D) Surface representation of IMP-1 (shown in transparent gray). The SFC molecule is shown as described for panel A. Trp64 and His263 are represented by silver sticks.

(E) Surface representation of NDM-1 (shown in transparent cyan). The SFC molecule is shown as described for panel A. His263 is represented by cyan sticks.

(F) Summary of the binding mode between subclass B1 MBLs (IMP-1, NDM-1, and VIM-2) and SFC.

現在, この化合物をベースに, 将来, MBL阻害剤として医療用に使用が可能となる新たな阻害化合物の開発を目指し, 国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)創薬戦略部(iD3)の支援を受け, 修文大学の荒川宜親が研究代表者となり, 本学の和知野特任准教授(前:名古屋大学大学院医学系研究科講師)らとともに, 東京大学創薬機構構造展開ユニット(安田公助特任准教授他), 名古屋大学のITbMおよび金城学院大学薬学部などの研究者と連携しつつ研究を推進している。

また, 一連の研究開発の中で見出したMBL阻害剤の1つを応用することで, IMP型のみならず海外で広がり問題となっているNDM型MBLを産生する細菌を簡便に識別することができる新規検査法の構築にも最近成功した(6)。

参考文献

1. 「薬剤耐性 (AMR) 対策について」厚生労働省
<<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000120172.html>>
<<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000152795.pdf>>
2. 薬剤耐性 (AMR) とワンヘルス (One health)
<<https://amr.ncgm.go.jp/medics/2-6.html>>
3. 荒川宜親, カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE) 等新型多剤耐性菌のグローバル化と臨床的留意点, 日本化学療法学会雑誌 Vol.63 No.2 March 2015.
<<http://www.chemotherapy.or.jp/journal/jjc/06302/063020187.pdf>>
4. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994 Jan; 38(1): 71-8. doi: 10.1128/AAC.38.1.71.
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC284399/>>
5. Wachino J, Jin W, Kimura K, Kurosaki H, Sato A, Arakawa Y. Sulfamoyl heteroarylcarboxylic acids as promising metallo- β -lactamase inhibitors for controlling bacterial carbapenem resistance. *mBio.* 2020 Mar 17;11(2) : e03144-19. doi: 10.1128/mBio.03144-19.
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7078479/>>
6. Norizuki C, Wachino J, Jin W, Kimura K, Kawamura K, Nagano N, Arakawa Y. Practical agar-based disk diffusion tests using sulfamoyl heteroarylcarboxylic acids for identification of subclass B1 metallo- β -lactamase-producing *Enterobacterales*. *J Clin Microbiol.* 2021 Sep 20;59(10): e0076121. doi: 10.1128/JCM.00761-21.
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34260275/>>

Yoshichika Arakawa

Various carbapenem-resistant Gram-negative microbes have spread in medical settings worldwide and they usually demonstrate multidrug resistance nature against a variety of antibacterials including carbapenems. Therefore, those multidrug resistant bacteria have become a serious clinical problem affecting the prognosis of the patients suffering from neoplasms and/or those receiving advanced medical cares. Due to these medical situation, I am conducting a research project for developing new chemical agents that would contribute to the treatment of infections caused by multidrug resistant bacteria by the support of AMED (Japan Agency for Medical Research and Development).