

# 薬剤耐性菌感染症克服に向けた 新規創薬開発

熊本大学大学院生命科学研究部

微生物学講座

教授 澤 智裕

2023年7月20日

# 背景：カルバペネム耐性菌とメタロβラクタマーゼ

## カルバペネム耐性菌は世界的な脅威

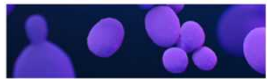
## メタロβラクタマーゼ

### Urgent Threats

These germs are public health threats that require urgent and aggressive action:



CARBAPENEM-RESISTANT  
*ACINETOBACTER*



*CANDIDA AURIS*



*CLOSTRIDIODES DIFFICILE*



CARBAPENEM-RESISTANT  
*ENTEROBACTERIACEAE*



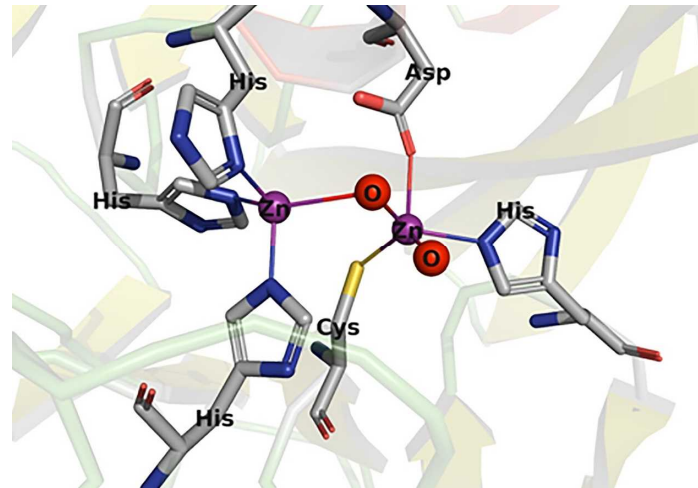
DRUG-RESISTANT  
*NEISSERIA GONORRHOEAE*

### Serious Threats

These germs are public health threats that require prompt and sustained action:



MULTIDRUG-RESISTANT  
*PSEUDOMONAS AERUGINOSA*



Trends in Pharmacological Sciences 2018 39635-647DOI: (10.1016/j.tips.2018.03.007)

米国CDC 2019 Annual Reportより

- 活性中心に亜鉛をもつ酵素
- カルバペネムを含むほぼ全てのβラクタム系抗菌剤を分解し、それらに耐性をもたらす
- 伝達性プラスミドで菌種や菌株を超えて伝播する
- 国内ではIMP-1グループの検出頻度が高い
- 臨床展開された阻害剤はない

# 背景：カルバペネム耐性菌感染症

## 感染者数

図1. CRE感染症の年別報告数、2014年-2019年

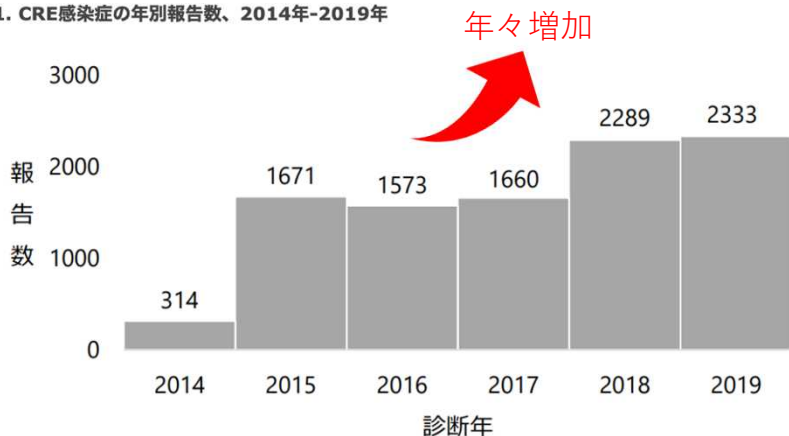


表1. 2019年CRE感染症2,333例の診断名

診断名 (重複あり)	n	割合
尿路感染症	782	34 %
菌血症/敗血症	556	24 %
肺炎	493	21 %
胆嚢炎/胆管炎	340	15 %
腹膜炎	145	6 %
腸炎	35	2 %
髄膜炎	14	1 %
その他	410	18 %

表3. 2019年CRE感染症2,333例の分離菌種、重複あり

報告された菌種名	n	割合
<i>Klebsiella aerogenes</i> *	956	41.0 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	652	27.9 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	198	8.5 %
<i>Escherichia coli</i>	130	5.6 %
<i>Serratia marcescens</i>	75	3.2 %
<i>Enterobacter sp.</i>	50	2.1 %
<i>Citrobacter freundii</i>	49	2.1 %
<i>Klebsiella oxytoca</i>	32	1.4 %
<i>Citrobacter braakii</i>	19	0.8 %
<i>Enterobacter asburiae</i>	19	0.8 %
<i>Morganella morganii</i>	16	0.7 %
<i>Providencia rettgeri</i>	12	0.5 %
<i>Klebsiella sp.</i>	10	0.4 %
<i>Providencia stuartii</i>	7	0.3 %
<i>Citrobacter sp.</i>	7	0.3 %
<i>Citrobacter koseri</i>	6	0.3 %
<i>Proteus mirabilis</i>	6	0.3 %
<i>Enterobacter kobei</i>	4	0.2 %
<i>Serratia sp.</i>	4	0.2 %
<i>Enterobacter intermedium</i>	2	0.1 %
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	0.1 %
<i>Pantoea sp.</i>	2	0.1 %
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	0.1 %
<i>Serratia plymuthica</i>	2	0.1 %
Others	17	0.7 %
ND/UD	69	3.0 %

\* 2017年*Enterobacter aerogenes*から菌名変更  
(2017. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 67:502-504)

参考 感染症法の届出及び米国Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012における微量液体希釈法による各抗菌薬の耐性 (R) の判定基準値

薬剤名	感染症法届出基準	CLSI*(M100-S22)
カルバペネム系	メロペネム	≥2μg/mL
	イミペネム	≥2μg/mL
セファマイシン系	セフメタゾール	≥64μg/mL

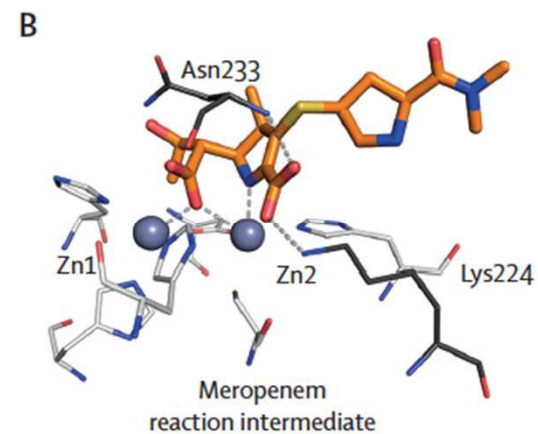
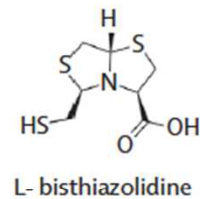
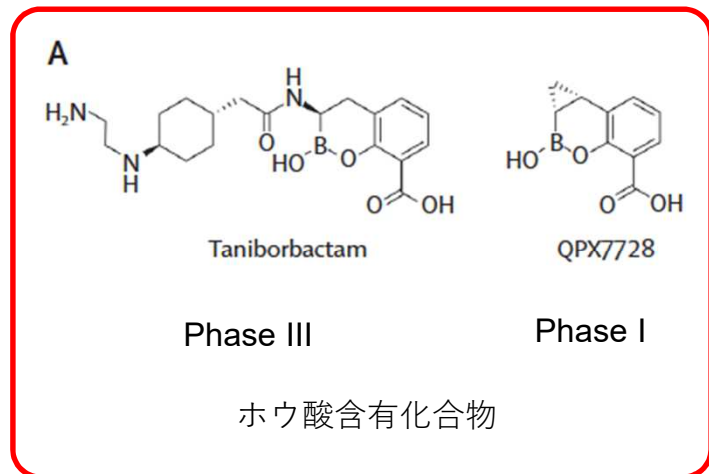
\*Rの基準、CLSI 2020(M100-Ed30)の基準も同様

国立感染症研究所 感染症疫学センター (2021年4月25日掲載)



## 背景：メタロβラクタマーゼ阻害剤の開発状況

### これまでに報告のあったメタロβラクタマーゼ阻害剤



Lancet Infect. Dis, 22 (2022) e28-34.

## 発明の概略

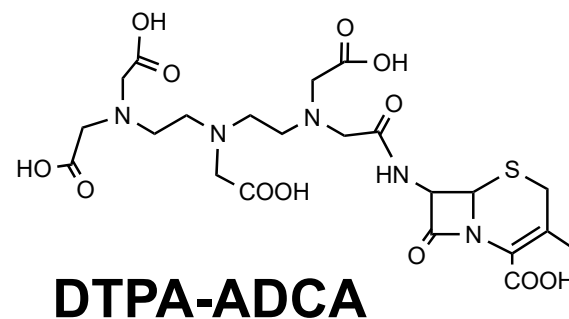
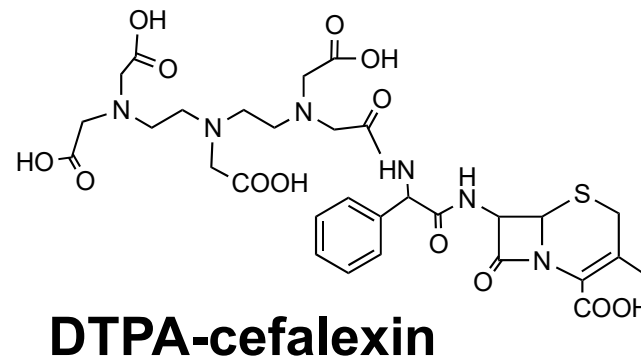
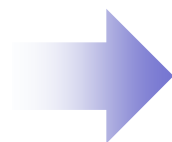
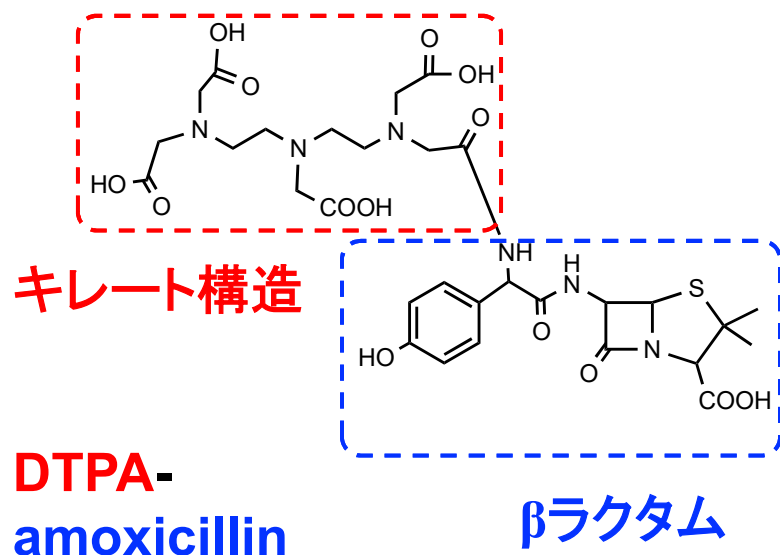
幅広い $\beta$ ラクタム系抗菌薬を分解・失活させる酵素であるメタロ $\beta$ ラクタマーゼ（metallo-beta-lactamases: MBLs）は、細菌感染症治療の切り札とされるカルバペネムを分解することから、MBLs活性を阻害することは薬剤耐性菌感染症を治療する上で重要な課題となっている。

本発明は、MBLs活性を強力に阻害することで、MBLs産生菌におけるカルバペネム感受性を野生型菌に匹敵する\*まで著しく回復させる新規MBLs阻害剤に関する。

\*指標としては、薬剤感受性試験で「感受性」と判断されるメロペネム 2  $\mu\text{g/ml}$  以下が最小阻止濃度となること。

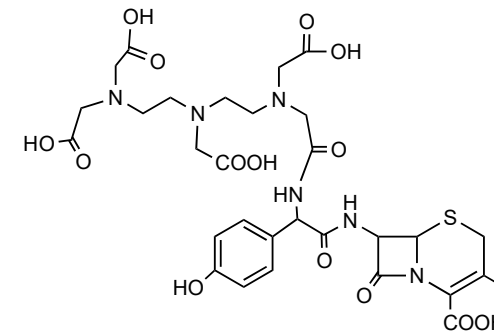
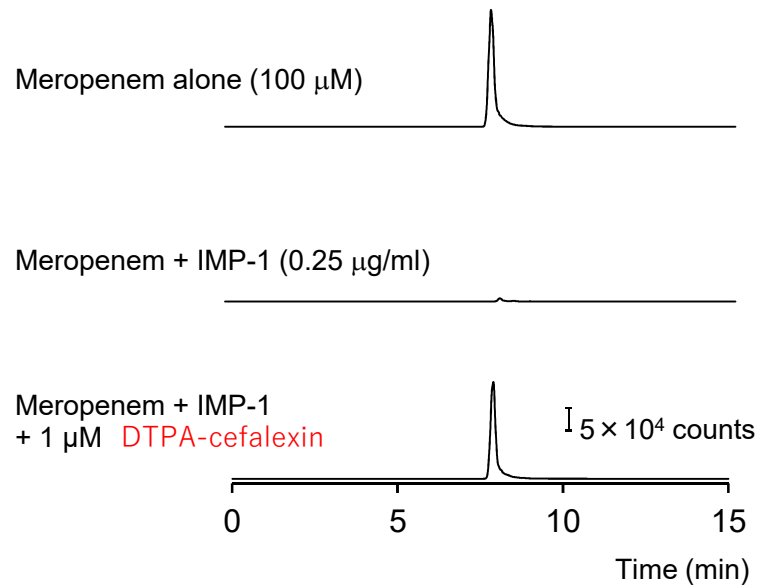
# 研究の経緯： 金属キレート構造を持つβラクタムがメタロβラクタマーゼを阻害することを発見

複数のカルボキシル基をβラクタム構造に導入した新規化合物が抗緑膿菌作用を獲得した



Microbiol. Immunol, 65 (2021) 449-461.

## 新規化合物によるメタロβラクタマーゼの阻害



**DTPA-cefalexin**

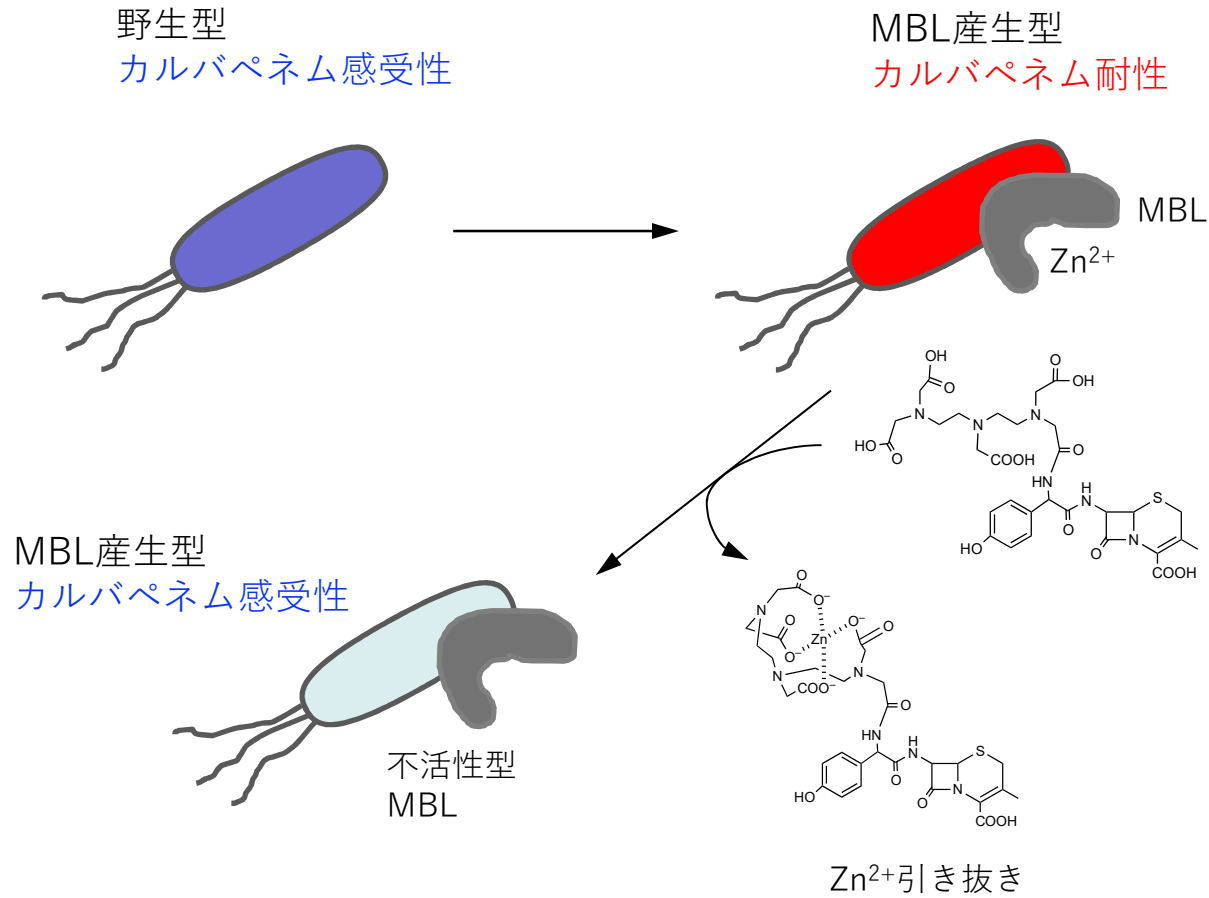
IMP-1によるメロペネムの分解が、メロペネムに対してわずか100分の1量のDTPA-cefalexin添加により顕著に抑制される。質量分析による解析結果

。



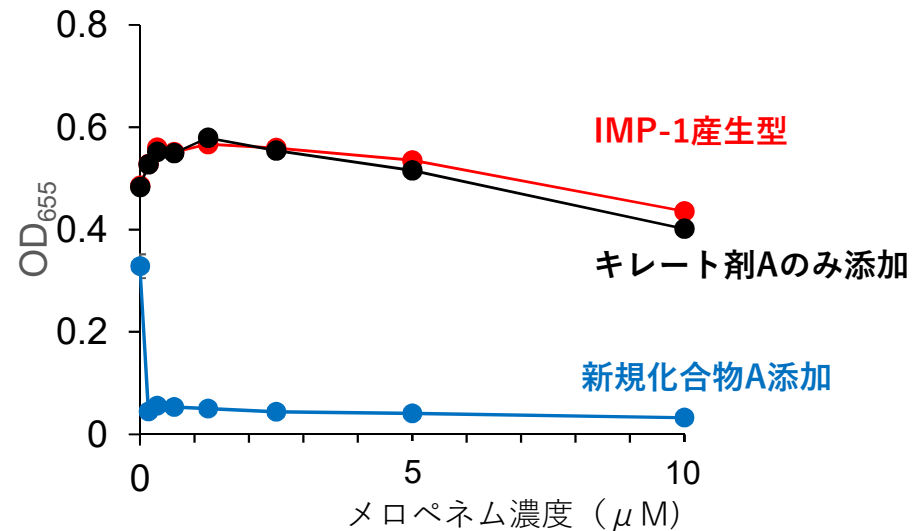
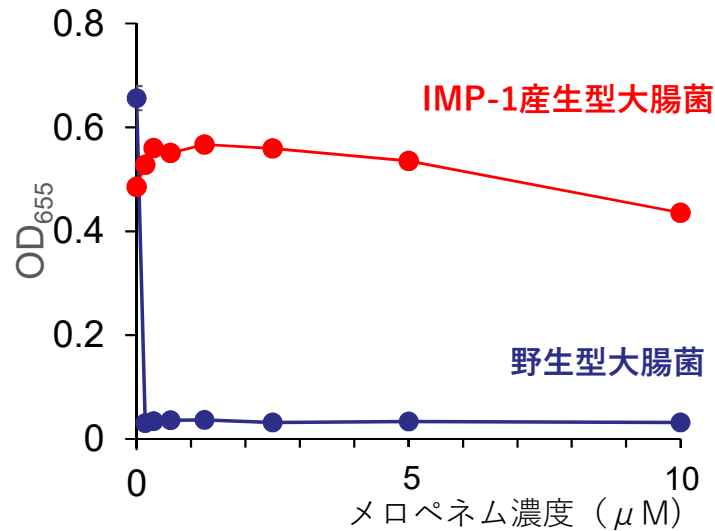


# 予想される阻害機構



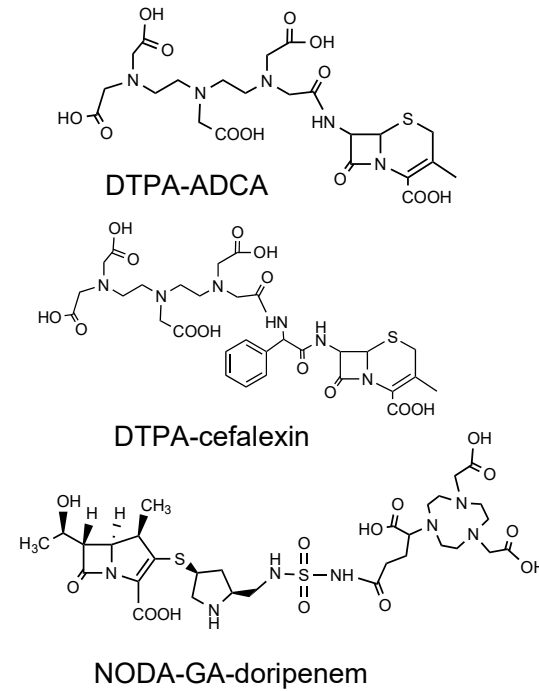
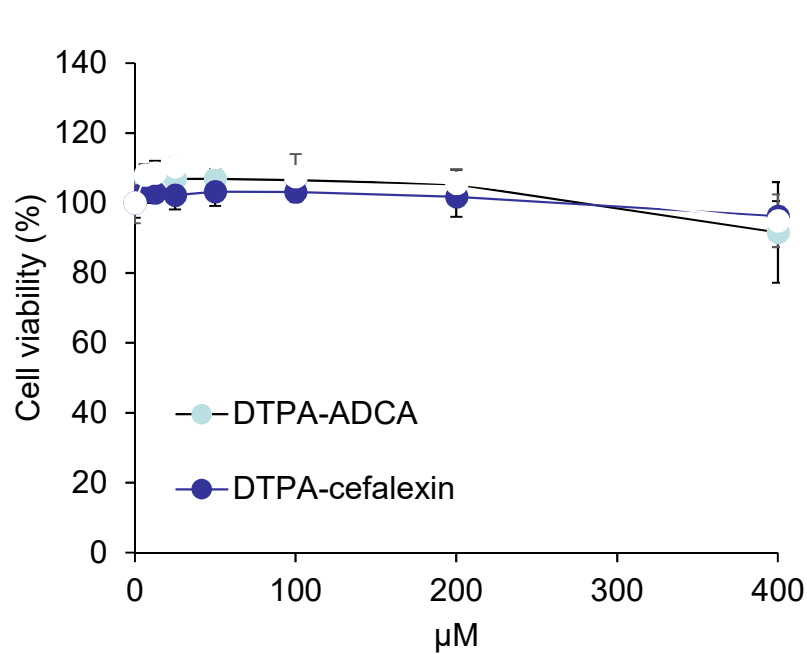
実際の耐性菌に効果があるのか？

## メタロβラクタマーゼ発現大腸菌に対する抗菌作用



IMP-1産生菌はメロペネムに耐性になる（左図）。IMP-1産生菌を新規化合物A (10 μM)共存下でメロペネムと培養すると野生型と同程度まで感受性が回復する。本キレート剤そのものにはそのような作用はない（右図）。

# 培養細胞に対する細胞毒性



## HeLa細胞に対する細胞毒性試験.

HeLa細胞に表示の濃度の化合物を添加し、6時間培養した。その後、細胞生存率をMTTアッセイにて定量した。結果は、化合物を添加しない場合を100%として表記した。

## 従来技術とその問題点

- 臨床応用された阻害剤はない
- 臨床研究（第3相）が進んでいるtaniborbactamは、効果が低い酵素型（IMP-1など）がある

## 新技術の特徴

- ・新規化合物デザイン
- ・優れた治療効果 (in vivo)
- ・幅広いグラム陰性菌に対する高い有効性

## 従来技術との比較

	taniborbactam <sup>1</sup>	DTPA-cefalexin <sup>2</sup>
NDM-1酵素阻害作用	○	○
IMP-1酵素阻害作用	X	○
NDM-1発現菌の感受性増強作用	○	○
IMP-1発現菌の感受性増強作用	X	○
阻害様式	可逆的	要検討（非可逆を推定）

1) Antimicrob. Agents Chemother., 64: e01963-19 (2020).

2) 本特許

MBL産生菌に対して、phase IIIまで進んでいるtaniborbactamとの比較において、taniborbactamが無効であった臨床分離多剤耐性緑膿菌や臨床分離多剤耐性肺炎桿菌に対しても、本化合物は極めて優れた治療効果を示した。

## 想定される用途

- $\beta$ ラクタム系抗菌剤との併用
- 細菌感染症治療（ヒト用）
- 細菌感染症治療（動物用）



## 実用化に向けた課題

- 細胞レベルでの毒性は確認済み。今後、前臨床試験としての動物実験での急性毒性試験を行う。
- In vivoでの効果は確認済み。薬物体内動態の解析についても実施中。
- 大規模合成系の確立。

## 企業への期待

- 細菌感染症治療薬（ヒト用、動物用）の実用化に向けて、企業との共同研究を希望。
- MTAにてサンプル提供可。

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：メタロβラクタマーゼ阻害剤
- 出願番号：特願2021-081860,  
PCT/JP2022/ 20285
- 出願人：熊本大学
- 発明者：澤智裕、山口佳宏、荒川宜親

## 産学連携の経歴

- H29年度 AMED感染症研究革新イニシアティブ(J-PRIDE)採択
- 令和3年度 AMED橋渡し 九州大学シーズA研究に採択
- 令和4年度 AMED「新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業」採択
- これまでに、別テーマにて複数企業との共同研究の実績あり。

## お問い合わせ先

**熊本大学**

**熊本創生推進機構**

**イノベーション推進部門**

**研究コーディネーター**

**有田 健一**

**T E L 096 - 342 - 3246**

**F A X 096 - 342 - 3300**

**e-mail [liaison@jimu.kumamoto-u.ac.jp](mailto:liaison@jimu.kumamoto-u.ac.jp)**