

多剤耐性菌が産生するカルバペネマーゼの新規阻害剤の開発

和知野純一

名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65

Jun-ichi Wachino

¹Department of Bacteriology, Nagoya University Graduate School of Medicine,
65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya, 466-8550, Japan

1 はじめに

抗菌薬に抵抗性を示す多剤耐性菌の世界的蔓延が問題となっている。カルバペネム系薬は切り札的抗菌薬としてこれまで臨床で使用されてきたが、病原細菌はカルバペネマーゼを産生することでカルバペネム系薬さえも分解、不活化するようになった。カルバペネマーゼを産生する病原細菌が感染症を引き起こした場合、その死亡率は、カルバペネマーゼ非産生菌が感染症を引き起こした場合よりも大幅に高くなると報告されている。このようにカルバペネマーゼ産生菌は公衆衛生上大きな脅威となっており、現在、カルバペネマーゼ産生菌感染症に有効な新たな治療法の開発が求められている。そこで我々は、カルバペネム系薬の抗菌効果を *revive* することを目的に、カルバペネマーゼ阻害剤の開発に着手した。カルバペネマーゼを強力に阻害する化合物を生み出し、最終的にカルバペネマーゼ産生菌感染症の治療に資することを目的としている。

2 実験

カルバペネマーゼの1つであるメタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の精製、結晶化を行った[1]。pET ベクターを用いた大腸菌発現系を使用し、大量培養、精製、結晶化を進めた。PEG4000、Lithium sulfate、Tris-HCl を含むリザーバー溶液を使用し、蒸気拡散法において良質な結晶を得ることができた。作製した結晶を、4-amino-2-sulfanylbenzoic acid (以下 ASB) が溶解したりザーバー溶液に一定時間浸潤させることで、SMB-1-ASB 共結晶を作製した。最終的に 1.2 Å 分解能のデータ収集・解析を行った。位相決定には分子置換法を用いた。構造精密化には Refmac5 を、モデル構築には coot を用いた。

また、別種のメタロ-β-ラクタマーゼである IMP-1 についても同様に大量発現系の構築、精製、結晶化を行った。PEG3350、Sodium acetate、HEPES を含むリザーバー溶液を使用し、蒸気拡散法において良質な結晶を得ることができた。作製した結晶を、Sodium mercaptoacetate (以下 MCR) が溶解したりザーバー溶液に一定時間浸潤させることで、IMP-1-MCR 共結晶を作製した。最終的に 1.6 Å 分解能のデータ収集・解析を行った。

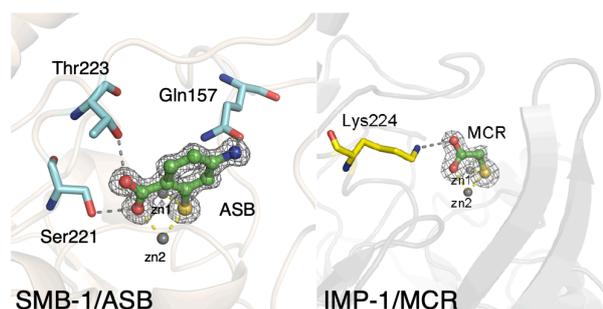


図1. メタロ-β-ラクタマーゼの活性中心

3 結果および考察

図1に活性部位周辺の様子を示した。ASB のチオール基が活性中心に存在する亜鉛に 2.0-2.2 Å の距離で配位している様子が観察された。また、カルボキシル基と zn2、Ser221、Thr223 との相互作用も確認された。さらに、4位のアミンと Gln157 との相互作用も確認された[1]。

IMP-1-MCR の構造においても、チオール基が活性中心に存在する亜鉛に 2.0-2.2 Å の距離で配位している様子が観察された。SMB-1-ASB 構造同様、カルボキシル基も zn2 に結合している様子が確認された[1]。

以上の結果から、メタロ-β-ラクタマーゼの活性中心にある亜鉛を標的に、チオール基およびカルボキシル基が結合することは、化合物が阻害剤として効果を発揮する上で極めて重要な事象であることがあきらかとなった。今後は得られた知見を基に、阻害剤の改変を進める予定である。

4 まとめ

2つのチオール含有化合物のメタロ-β-ラクタマーゼに対する阻害機構を原子レベルで明らかにした。

参考文献

[1] Wachino *et al.*, Antimicrob Agents Chemother (2019), AAC.01197-19.

* wachino@med.nagoya-u.ac.jp