





学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 1706 号	氏 名	吉田 一平
論文審査担当者	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>(主査) 教授 大城 太一</p> <p>(副査) 教授 前田 和哉</p> <p>(副査) 教授 奥脇 暢</p> <p>(副査) 教授 中原 努</p> </div> <div>     </div> </div>		
<p>〔論文題目〕</p> <p>「薬剤耐性病原体に対する新規治療戦略に関する研究」</p> <p>〔論文審査結果の要旨〕</p> <p>吉田氏は、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) に対する薬剤候補化合物 TP0586532 と RS ウイルス (RSV) に対する薬剤候補化合物 TP0591816 について、薬剤耐性を含めた病原体に対する生物活性評価、作用機序解析および薬効評価を行い、本論文で薬剤耐性病原体が拡散する前に駆逐できる新しい感染症治療戦略を提案した。</p> <p>感染症による死者数は、細菌やウイルスによる下気道感染症を筆頭に年間 1400 万人にも のぼり、そのうち3分の1以上は薬剤耐性菌によるものと推計されている。最近、WHO や CDC が、緊急性が高く脅威となる薬剤耐性菌リストを発表し、新規感染症治療薬の開発が強く望まれている。中でも、CRE は最も緊急性が高い薬剤耐性菌の1つとして指定されている。この CRE による感染症は、重症化すると多剤耐性を示す傾向があり、その治療法が限られて いる。現在、CRE 感染症は抗菌スペクトルが広いメロペネムの併用療法が有用であるとされ ているが、高度耐性 CRE では既存の併用療法によっても高い致死率を示すことが知られて おり、新規の薬物治療戦略が求められてきた。</p> <p>TP0586532 は、グラム陰性菌の外膜構成成分であるリポ多糖 (LPS) の合成酵素 LpxC を阻 害する新規薬剤候補化合物として見出された。この TP0586532 は、菌体の外膜透過性を亢進 することにより、併用した抗菌薬の抗菌活性を増強させる可能性が考えられ、本論文ではそ の仮説を検証した。まず、様々なβ-ラクタマーゼ (カルバペネマーゼなど) を産生する高度 耐性 CRE を用いて、TP0586532 とメロペネムの併用による抗菌活性の変化を評価した。そ の結果、21 株のうち、9 株に対して相乗効果、12 株に対して相加効果が認められ、TP0586532 がβ-ラクタマーゼの種類によらず CRE に対するメロペネムの抗菌活性を増強することが示 された。さらに、TP0586532 とメロペネムの併用による生菌数の経時変化を確認したところ、 12 株の高度耐性 CRE のうち 10 株に対して、単独時と比べて併用時の生菌数が 1/100 以下に</p>			

減少していることが認められ、強力な殺菌作用を示すことが確認された。次に、TP0586532 によるメロペネムの抗菌活性の増強作用を明らかにするために、エチジウムブロマイド (EtBr) を用いて菌体膜透過性について検討した。その結果、TP0586532 は濃度依存的に EtBr の取り込みを促進し、菌体膜透過性が亢進していることが明らかとなった。以上の結果から、TP0586532 は LpxC を阻害することで菌体外膜構成成分の LPS 合成を抑制し、菌体膜透過性を亢進させて CRE に対するメロペネムの抗菌活性を増強させることを明らかにした。TP0586532 とメロペネムとの併用療法は、それぞれの単独療法よりも強力な殺菌作用を発揮し、CRE の拡散防止に有用な治療手段となる可能性を示した。

次に、乳幼児や高齢者の死亡率が高い RS ウイルス (RSV) 感染症に対する薬剤候補化合物 TP0591816 を用いて、薬剤耐性 RSV に対する生物活性評価、作用機序解析、感染モデルマウスでの薬効評価を実施した。TP0591816 は、抗 RSV 活性を有するピラゾロ[1,5-a]ピリミジン環誘導体を出発原料に、マクロサイクロ化の合成手法で構造変換を行い、見出された。まず初めに、RSV 感染過程の膜融合に関与する F タンパク質が変異した薬剤耐性 RSV を含めた RSV に対する抗ウイルス活性を評価した。その結果、TP0591816 は A 型および B 型 RSV (野生型) に対して強力な抗ウイルス活性を示し、さらに F タンパク質変異 RSV 株 (D486N や T400I) に対しても抗ウイルス活性を示すことを明らかにした。一方、F タンパク質阻害剤 ziresovir (現在 Phase III での臨床試験中) は、これら F タンパク質変異 RSV 株に対しては無効であることから、TP0591816 は開発薬剤として有望であり、F タンパク質に対して ziresovir とは阻害形式が異なることが示唆された。つぎに、TP0591816 の作用機序解析および標的分子の検討を行ったところ、RSV 感染後の薬物暴露が遅延するほど効果が低下することから、RSV の細胞への侵入を阻害することが示唆され、さらに細胞培養温度を変化させた感染実験の結果から、TP0591816 は RSV の接着ではなく、RSV 侵入時の膜融合を阻害することが明らかとなった。さらに、TP0591816 の耐性 RSV 株を取得し、遺伝子解析した結果、F タンパク質に変異 (L141F) が入っていることが明らかとなり、その変異点は ziresovir 耐性株の変異点 (変異領域) とは異なっていた。さらに、RSV 感染モデルマウスを用いて、TP0591816 の薬効評価を行った。すなわち、RSV 感染 1 時間前に、TP0591816 (1、10、100 mg/kg) を皮下投与し、RSV 感染 4 日後に肺中 RSV 量を定量した。その結果、TP0591816 は毒性を示すことなく、用量依存的に肺中 RSV 量を有意に低下させた。さらに、*in vitro* の薬物動態 (PK) パラメータ (人工膜透過性、肝固有クリアランスなど) とカニクイザルの PK パラメータから推定臨床用量を推定し、ziresovir 耐性株を含めて、ヒトへの投与可能な用量であることを明らかにした。以上の結果から、TP0591816 は RSV の F タンパク質を標的分子とし、RSV の膜融合を阻害することで抗ウイルス活性を示し、*in vitro* と *in vivo* で有効であることを明らかにし、さらに他の F タンパク質阻害剤に耐性を示す RSV にも有効であることも証明した。

これら研究成果は、LpxC 阻害化合物 TP0586532 とメロペネムの併用療法は CRE を速やかに強力に殺菌する新規の治療手段となり得ること、また TP0591816 は ziresovir 耐性 RSV 株に対して有効性を示す F タンパク質阻害薬として新規の感染症治療の選択肢を提供するものであった。

以上のように、吉田氏による本研究は、新規性および独創性が高く、博士 (薬学) の学位に十分値するものと判断し、学位審査を合格と判定した。