

## 第75回総会特別講演

## 21世紀の化学療法

大村 智

社団法人北里研究所

The 75th Annual Meeting Special Lecture

## PROSPECT OF CHEMOTHERAPY IN THE 21ST CENTURY

\*Satoshi OMURA

\*The Kitasato Institute

“Golden Era in Chemotherapy” has begun with the discovery of penicillin in the early 1940's and lasted for two decades during which many antibiotics were discovered. However, the once-believed bright prospect that every infectious disease could be eliminated on the earth by the discovery of antibiotics had to be canceled owing to the emerging of drug-resistant microbes. It was indeed a rat race.

We are now at the point when we have to seek another way to combat infectious diseases: One possible way might be not to eradicate the microbes but to coexist with them so long as they do no harm to the human hosts. The first step of infection with pathogens to the host is the adherence of the microbes to the surface of host cells. Therefore, the method how to inhibit this adhesion of microbes to the host cells may provide a new tool to prevent the development of infectious diseases without elimination of microbes from the host. This is just an example of strategy by which humans and pathogens coexist at peace and should be taken into consideration for the development of new-type antibiotics or “anti-infective drugs” in the 21st century.

The analysis of genome sequences has been accelerated recently for various pathogenic bacteria one by one. New targets in the pathogenic microbes for the development of new antibiotics can, therefore, be determined from the genetic point of view.

The discovery of antibiotics has indeed been the history of collection of innumerable species and/or strains of bacteria from the soils to search for the biologically active anti-pathogenic agents. The current progress in the technology of molecular genetics, however, will certainly make it possible to search for active molecules by DNA technology; bacterial DNA but not whole microorganisms from the soil is to be transformed into the conventional bacteria and searched for active molecules with combat against pathogens.

\*〒108-8642 東京都港区白金5-9-1

\* 5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8642 Japan.  
(Received 24 Jul. 2000)

**Key words:** Chemotherapy, Anti-infective drug, Coexistence of pathogen and host, Gene technology

キーワード: 化学療法, 抗感染薬, 寄生体-宿主の共存, 遺伝子操作

## 1. はじめに

感染症の制圧のための、ペニシリンを始めとする抗生物質の発見に始まる華々しい20世紀の化学療法剤の開発は、いわゆる“Golden Era”(1940-1960)で、多くの基本的な抗生剤が発見された。そのターゲットはもっぱらその代謝経路を断つことにより病原微生物を殺すという点に向けられてきた。その後、耐性菌に対応するために化学修飾されながら、多くの化合物の開発が続いた。しかしそれらは作用機序において従来の基本の物質とは本質的な違いはなかった。かくして、新しい薬剤の開発—耐性の獲得—修飾した薬剤の開発—耐性の獲得、の経路はいつまで経っても断ち切れず、この繰り返りでは病原微生物の制圧は不可能であることを、われわれは教えられてきたといえる。

それでは感染症のコントロールに向けて他にによりよい方策はないものだろうか。今日、個々の病原菌の病原性が遺伝子のレベルでより詳細に明らかにされてきた。21世紀の化学療法剤は宿主細胞への付着性、侵入性などの、病原性に関わる遺伝子もターゲットとなり得よう。微生物は存在してもよい、それが宿主に害を及ぼさない範囲において。そうした宿主(ヒト)と微生物との共存共栄を図れないか。そして、菌側がその共存を破るようなときには「待った」をかける、そういった薬剤の開発である。また、宿主の免疫力を高める薬剤をも含めた、これらの「抗感染薬(anti-infective drug)」と表現される、より拡大された概念をもった薬剤の開発が必要であろう。

さらに21世紀には、評価されるべき化合物をいかに供給していくかという面においても、特に微生物の遺伝子操作による新規物質の合成・供給などの新しい研究の流れが加速されるであろう。

## 2. 病原微生物に新しいターゲットを求める

1920年代は、結核は国民病と言われ、年間10万人以上が死亡した。その後、今日に至るまで、人類は化学療法剤をもって結核を減少させてきた。ところが現実には、耐性菌の出現により手術しか助かる道がないという昔の結核の状況に再びもどりつつある。

化学療法はサルバルサンに端を発し、ペニシリンの発見による抗生物質の開発が進み、化学療法剤発見の「黄

金時代(Golden Era)」を迎えた。1940年代後半から60年代前半の20年間である。しかしその後は上述のごとく、少しずつ基本の薬剤の化学構造を改良して耐性菌に抗してきたが、それらは本質的な作用機序において、大きな変化は認められなかった。

1998年には、結核菌に対するイソニアジド(INH)の作用機序が解明されている。結核菌に特有のミコール酸の生合成には還元、脱水、飽和を繰り返して炭素数50の脂肪酸が出来上がるが、この合成過程をINHはブロックする。INHの合成はすでに1910年ごろであったが、実際に抗結核剤として使われたのは1950年代であった。結核菌の細胞壁成分の1つであるミコール酸の合成をブロックするというINHは、その作用機序からみて理想的な薬剤である。ところがこの理想的な薬剤にも当然のことながら耐性菌が現れてきた。耐性菌はINHをアセチル化する酵素(アリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼ)を誘導することにより、INHの働きを不活化する。かくして病原微生物は、それに対する理想的な化学剤が開発されても、必ず耐性を獲得していくというしくみを備えている。

一方、ゲノムの解析が進むにつれて、従来とは異なり、別の観点からもっと多くのターゲットを病原微生物に求めることができるのではないか、と考えられるようになった。すでに結核菌は全ゲノムの解析が完了した。*Staphylococcus*の場合はまだ完全な解読はなされていないが、2000個の遺伝子の存在が予測されている。そのうち200個はいわゆるhouse-keeping geneで、生育に必要な遺伝子である。ところが既存の化学療法剤はこの200個の5%、10個程度がターゲットになっているにすぎない。斬新な薬剤の開発のためには、新しいターゲットとなり得る遺伝子を探し求める必要がある。それを分子遺伝学的手法を用いて探索し得ないかということである。

1つの例をここに示そう。IPP(isopentenyl diphosphate)という物質がある。これはヒトではコレステロール、細菌ではユビキノンなど生命にとって重要な物質の前駆物質である。普通、IPPは酢酸が3個縮合して、メバロン酸を経て合成される。ところが1993年に、ある種の細菌においては、メバロン酸を経ないでもIPPが合成されることが報告された。そこに関与するのがDXPレダクトイソメラーゼという酵素であり、その遺

伝子も同定された。この酵素遺伝子を有する微生物には大腸菌、結核菌、ヘリコバクター、緑膿菌等がある。これらの細菌ではメバロン酸を経ることなくIPPを作っていたのである。ヒトではこの酵素がないためにメバロン酸を経る経路でコレステロールが合成される。従って、上述の菌に対する化学療法剤を考えた場合、この酵素は非常に好都合なターゲットとなり得ると考えられる。ちなみにホスミドマイシンはこの酵素の阻害剤であることがわかった。

### 3. 病原微生物との共存をめざす「抗感染症薬」

1998年、結核菌の全ゲノムが解読され、約4000個の遺伝子の存在が明らかになった。結核菌の細胞壁に特徴的な脂肪酸合成や、病原性に関する遺伝子が同定された。その中でPDIM (phthiocerol dimycocerosate) という化合物がある。Albert Einstein大学のグループは、この合成系に関与する酵素遺伝子が変異した結核菌は、マウスに感染すると脾臓と肝臓には病変を作り結核菌は検出されたが、肺には病変は形成されず、結核菌は検出し得なかったことを報告している。すなわち、結核感染による肺病変の成立にはこのPDIMが必要であることを示している。そこで、たとえvirulent株であっても何らかの人為的操作でこのPDIMを合成する酵素系を不活化し、この物質を発現できなくすれば、その結核菌株は肺に病変を作ることができなくなる。すなわち、菌は存在するが病変はできないという、宿主との共存共栄を図りながらも、肺結核の発病は予防できるかもしれない。

病原菌が細胞に入って感染するためには、まずその表面に接着する必要がある。この接着に必要な分子を阻害すると接着が起こらなく、従って感染が起こらない。菌は存在しても感染は起こらないということになる。例えば、腸管病原性大腸菌 (EPEC, enteropathogenic *E. coli*) はインチミンという接着分子を出して、宿主側のHP90と接着して宿主細胞に侵入し得る。まずTirという蛋白が菌体内で産生、分泌されて宿主細胞内に入り込むと、シグナル伝達系が動き、宿主細胞内のチロシンキナーゼによりリン酸化される。このものが次に、EPECが本来持っているインチミンと接着し、菌の侵入が可能となる。ここに感染が成立する。そこでこのTir蛋白が菌体外へ分泌されるところを阻害すれば、EPECの存在を許しながらもその感染の阻止は可能となる。

また、サイトカインで活性化された内皮細胞はその表面にPAF (platelet-activating factor, 血小板活性化因子) 受容体を出すが、virulent連鎖菌はその細胞壁のホスホコリンを介して、このPAF受容体に結

合し細胞内へ侵入する。そこで、このPAF受容体のアンタゴニストは病原性の肺炎連鎖菌が内皮細胞に侵入・感染するのを抑制することができる。すなわち、菌を殺すことなくその感染を防止できることになる。

このように宿主細胞に細菌が感染するには接着することが重要である。一方、細胞の接着を阻止する物質をスクリーニングしていくと、それらの中から癌細胞の転移を抑制する物質が見つかった。マクロスフェライドはその1つである。このような低分子物質が高分子の接着を阻害するという意味合いにおいて、興味ある物質である。

次に毒素の作用を阻止する物質探しである。この場合も菌は侵入してもよい、その病原性に関する毒素の作用を阻止し、宿主に害を及ぼさなければよいという考えである。腸管出血性大腸菌O-157の産生する志賀トキシンの細胞表面への結合部位はすでに解明されている。そこで、この細胞への結合部位のグロボトリオシルセラミドと類似の構造の分子を、高分子の珪藻土に結合させた物質は毒素を吸着する。その結果、毒素が細胞へ結合することを阻止し得ることになる。珪藻土は糞便中に回収されることにより、腎臓での毒性、溶血性腎毒性を予防することが可能である。実際に臨床への応用が報告されている。

### 4. 宿主の免疫能を高める

細胞内寄生の微生物感染に対する防御免疫には、Th1細胞とマクロファージによる細胞性免疫が関与する。このTh1細胞を活性化させるには、抗原を介しての抗原呈示細胞からのシグナルが必要であるが、この場合にもう1つのシグナル系、T細胞上のCD28分子のアミノ基と抗原呈示細胞上のCD80分子のアルデヒドとが結合してco-stimulating factorとして働く。これには両ペプチドがシッフ塩基を形成することが必要である。ツカレソールという化合物があるが、この分子がTh1細胞上でシッフ塩基を形成すると、co-stimulating factorの役目をしてTh1-マクロファージの活性化が起こり、細胞性免疫が駆動する。実際にこのツカレソールは、マウスを用いる実験でサイトメガロウイルスの感染を抑え、また結腸のアデノカルチノーマの増殖を抑制した。

### 5. 遺伝子操作による新しい抗生剤の合成と供給

上述のように、微生物の遺伝子解析が進むにつれ、多くのターゲットとなり得る部位が明らかにされていく。一方、それらのターゲットに対応した活性のある化合物を産生する微生物を探索する必要がある。この評価されるべき化合物をいかに探し供給していくかという問題がある。

今、地球上に存在する昆虫は800万のうち80万しか発見されていない。カビは150万のうち5%の7万弱といわれている。細菌は12%といわれていたが、現在ではもっと多くの細菌がVNC (viable but nonculturable) の状態で存在しているだろうと推定され、恐らく99%はまだ未発見のまま土壌中に生存しているのではないかと考えられている。従来の抗生物質はまず土壌中の微生物を分離し探索が行われてきた。それを、菌が分離できないなら、菌から直接遺伝子DNAを取り出しうまく利用できないか、それらの中に病原微生物のターゲットに対応し得る生物学的活性をもった化合物を見つけようという発想がある。

例えば、BAC (bacterial artificial chromosome) vectorを用いて、取り出したVNC細菌のDNAを大腸菌や放線菌に導入して発現させる。すなわち、土壌中の微生物のDNAだけを手に入れればよい。それをわれわれの利用可能な微生物に導入して、活性のある物質を作らせるという考えである。現在、大きなDNAを組み込むことができるベクターが開発されている。人々は過去に、既知の1%の微生物を用いて何十万の化合物を見つけしてきた。そのことから考えると、未知の99%の菌からのDNAに託する期待は大きい。また既知の菌からの遺伝子を操作することにより新しい化合物も作り得る。かくして、遺伝子工学的手法を用いて、多彩な抗菌活性を持った化合物を産生させることが期待できる。

例えば、われわれの研究室が発見し開発した抗生剤エバーメクチンの全遺伝子が解明された。そこで次には、遺伝子操作で遺伝子を置換したり欠落させたりした場合、どんな活性がもたらされるだろうかという期待がある。エバーメクチンは *Streptomyces avermitilis* により生合成される抗生物質であるが、現在、この菌の全遺伝子の解読が進められている。このうち、エバーメクチン合成に必要な遺伝子は全体の1%と考えられている。例えば、エバーメクチンのプロピオン酸を酢酸に変換すれば活性がどう変わるか。それを遺伝子操作で行う研究が進んでいる。この変換を化学的に行うことは容易ではない。

1985年にすでにわれわれは、遺伝子操作により新しい抗生剤を開発できるという概念を示した。例えばAという抗生物質を作る遺伝子とBという抗生物質を作る遺伝子の存在がはっきりしている場合、Aの遺伝子の一部分を取り出し、発現ベクターに組み込みBの抗

生物質を作る生産菌に導入することにより、全く新しい抗生物質を作ることが可能である。この考えで幾つかの新しい化合物を作ることに成功してきた。

ついでわれわれは、より直接的に染色体上で部分的に変換することによって、作られる化合物を変えていこうと試みている。遺伝子のレベルで酵素活性を変換することによって、新しい組成の化合物を合成するという試みである。

要するに今までは、出来上がった抗生物質の構造を化学的に変化させることによって、新しい抗生剤を開発してきた。それを菌の遺伝子を操作することによって、抗生物質の構造を生物学的に変換しよう。人間が考える以上の化合物を微生物は作り得る。それらの中にわれわれが求める活性のある化合物を見つけていこうということである。

## 6. おわりに

感染症を制圧するうえで、病原微生物の構造上のターゲットとなり得る物質はまだ多いはずである。この場合、微生物の生存に必要な物質の生合成系をブロックし、殺菌することを目的とする従来の型の抗生剤の開発では、耐性菌問題を回避することができない。21世紀は、病原体とヒトとの共存を図る、ヒト宿主の生存に悪影響を及ぼさない限りにおいて、病原微生物の共存を許すという「抗感染薬、anti-infective drug」の概念をも視野に入れての薬剤の開発がなされるべきであろう。例えば、宿主細胞への感染・侵入に必要な細胞接着を阻止する薬剤、毒素の宿主細胞への作用点を阻害する薬剤、その他宿主の免疫防御能を高める物質も含まれるであろう。

また、微生物の遺伝子解析が急速に進んでいる。土壌中など、われわれを取りまく環境中には未知の微生物が想像を超える数で存在していることが想定されている。その場合、直接に土壌中から微生物を分離するのではなく、遺伝子のみを取り出し、それを身近な大腸菌や放線菌に取り込ませることにより、病原微生物のターゲットに対応し得る活性物質を探索するという、遺伝子工学的手法を導入しての化学療法剤の開発が来世紀にはさらに加速されるであろう。

(本文はご講演の録音テープに基づき、露口がまとめた文章を大村先生が加筆・訂正されたものである)