

て作用を発現することはないと思われてきたが、筆者らは本多糖体を蛍光標識して、ウイルス感染細胞における標識物質の分布を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、蛍光標識体が明らかに細胞内に取り込まれていることを確認した。一方、活性分子の低分子化、脱硫酸化や硫酸基の対イオンである $\text{Ca}^{2+}$ イオンとほかの金属イオンとの交換により抗ウイルス活性が著しく変化したことから、分子の大きさや形、荷電状態などが活性発現の重要な制御因子であることがわかった。

一般に、多糖分子は消化管からの吸収が悪いので、医薬としての利用は困難であるとされてきたが、HSV-1感染マウスを用いたインビボ実験(経口投与)で、スピルリナ由来硫酸化多糖に顕著な抗ウイルス作用が認められた。これは、腸管免

疫系を介した免疫機能の亢進の結果であるとも考えられるが、活性物質の有用性を否定するものではない。また、帯状疱疹などの皮膚疾患に対しては必ずしも経口投与の必要はなく、軟膏剤として患部に塗布することも可能である。さらに、インフルエンザやSARSなどのウイルス性呼吸器疾患に対しては、うがい薬や吸入剤にした利用も効果的であると考えられる。

以上、天然物由来新規抗ウイルス活性分子の有用性的一端を紹介したが、今後もウイルス感染症の克服を目指した有用分子の探索研究を継続したいと思っている。

## 抗生物質と耐性菌の終わりになき戦い

Kitayama Takashi  
近畿大学農学部 北山 隆

### 細菌との戦いが再び始まった

1929年を境にして、人類の生活は一変した。フレミングによるペニシリンの発見以降、さまざまな抗生物質の発見・開発によって人類の生活環境は瞬く間に向上し、人類は細菌に打ち勝ったように思えた時期があった。しかし、MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)やVRE (vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*)に代表されるような多剤耐性菌の出現によって、人類は再び細菌の猛威に脅かされるようになりつつある。

さらにSARS, エイズ, ウエストナイルウイルスなどあらたな病気の出現と世界的な流行に見られるように、ウイルス・細菌による感染症の脅威は増すばかりで、その対応には一刻の猶予もない。そのなかで、とくに多剤耐性菌の猛威に対する有効な抗生物質(新規抗菌剤)の開発研究は急務であるが、耐性菌をターゲットとした全世界の製薬メーカーにおける新規抗生物質の開発研究は困難をきわめているようである。発展途上国の死因の45%, そして先進国も含めた44歳未満の死因の48%が感染症であるといわれているにもかかわらず、開発が滞っていることには何か大きな理由があるのだ

ろうか。21世紀の始まりを象徴するゲノム時代到来の今日、再び細菌との果てしない闘いに挑戦し、人類に勝利をもたらすために道を切り拓く研究がすでに始まっている。

### なぜ耐性菌が出現するのか

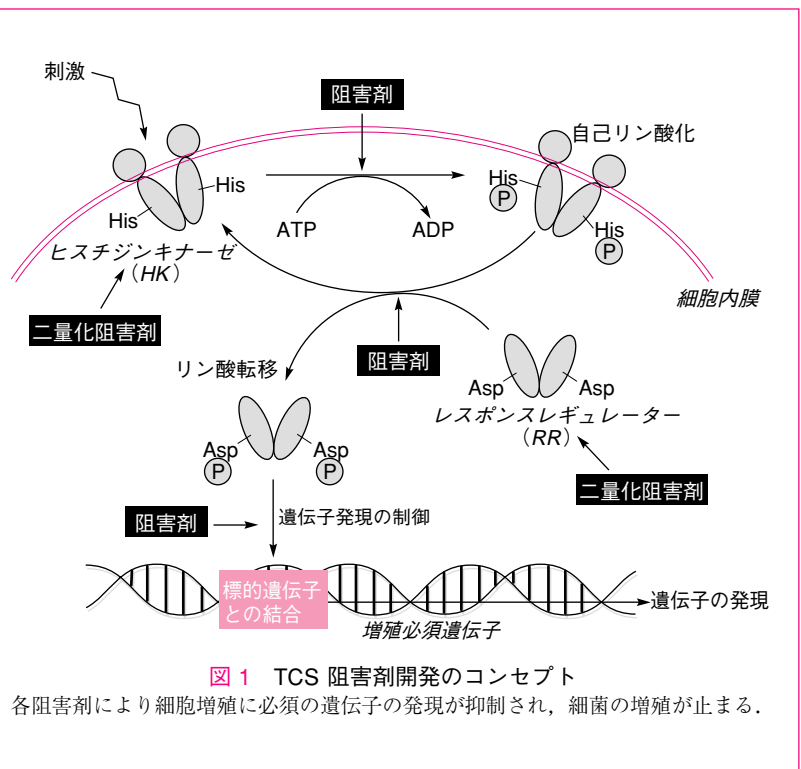
なぜ耐性菌が出現するのだろうか。それは既存抗生物質のターゲティングそのものにも一つの原因がありそうである。既知抗生物質は、細菌内のタンパク質、核酸、あるいはペプチドグリカン合成など、代謝マップの生合成過程を阻害して細菌増殖を抑制するが、ヒト細胞には作用しないことが特徴である。抗生物質の開発初期(ペニシリン発見から現在までのタイムスケールを初期と見ると)のターゲットとしては非の打ち所がないように見えるが、標的遺伝子の自然変異により耐性菌が必ず出現してしまうのである。したがって、同等のターゲティング法を用いた抗生物質の開発研究を引き続き行っても、耐性菌出現というジレンマから解消されることはなさそうに思われる。耐性菌の増殖も抑制し、結果的に耐性菌の出現そのものを抑止する抗生物質が幸運にも発見される可能性も捨てきれないが、その偶然を待っている時間はない。

## あらたなターゲットTCSの 発見

それではほかに手段はあるのだろうか。近年の細菌ゲノム情報を駆使した結果、細菌情報伝達系(二成分制御系, two-component system: TCS)の存在が明らかになった。二成分とは、センサータンパク質であるヒスチジンキナーゼ(HK)と、レスポンスレギュレータータンパク質(RR)から成り、TCSはこのタンパク質間のリン酸転移を介して遺伝子を発現するきわめて明快な情報伝達システムである(図1)。さらに非常に重要なことに、HKは細菌を中心として微生物界に広く保存されているが、ヒトなどの高等動物細胞ゲノムには現段階では見いだされていないのである。詳しくは最近、内海らによって簡潔にまとめられているので参照されたい[化学と生物; 41(5), 285(2003)]。

TCSがどのような刺激を感知するかなどについてはいまだに謎の部分も多いが、その機能として、病原性タンパク質や多剤耐性の主要因となる多剤排出ポンプ遺伝子の発現制御、そして細菌増殖にも必須の役割を担っていることが明らかとなり、そのほかにもさまざまな機能を制御していることがわかってきた。たとえば枯草菌には約30種類、大腸菌には30数種類のTCSペアが存在することが確認されている。もちろん、MRSAやVREにもTCSは存在している。筆者は現在、細菌増殖に必須のTCS(YycG/YycF)阻害剤の開発を中心として研究を進めている。有効な阻害剤はほかの複数のTCSも同時に制御する可能性があるため、このシステムを回避する耐性菌の出現率はきわめて低くになると考えている。また先述したように、既存の抗生物質の作用機作は代謝系に存在する生合成過程、すなわち遺伝子発現後の経路がターゲットとなるのに対し、TCSは遺伝子発現以前の情報伝達を司っているということも、TCS阻害剤が耐性菌を網羅する細菌類に対してきわめて有効な次世代型の抗生物質となることが期待される。

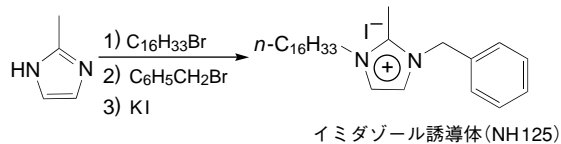
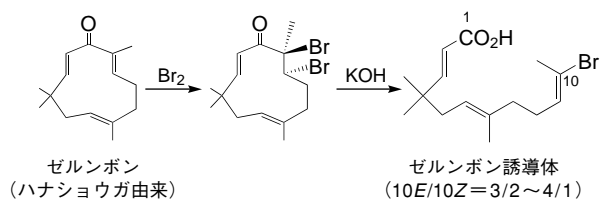
TCSの機構についてももう少し触れておこう(図1)。二重らせん構造をもつ膜タンパク質であるHKはATP結合ポケットと結合する巨大タンパク質で、HKはダイマー化することによって全体で四重らせん構造を形成している。ある刺激を受



けると、それぞれのヒスチジン残基に相補的にリン酸化する(自己リン酸化)。そのリン酸はただちにRRのアスパラギン酸残基にリン酸転移され、リン酸化RRはDNAと結合することによって増殖に必須な遺伝子を制御する。このような情報伝達阻害剤の探索手法の確立は、ペニシリンなどの開発とはまったく異なるコンセプトに基づいた薬剤開発研究を可能にした。

## 抗耐性菌薬剤開発のコンセプト

筆者はこのようなコンセプトに基づいて、有機合成化学的手法を用いた多剤耐性菌に対する挑戦を開始した。最近、多くの研究者によってHK阻害剤を指標としたTCS阻害剤が報告されてきたが<sup>1)</sup>、筆者らのグループによってゼルンボン誘導体<sup>2)</sup>とイミダゾール誘導体<sup>3,4)</sup>が細胞増殖に必須なHK(YycG)の自己リン酸化を阻害することを世界ではじめて報告することができた(スキーム)。ゼルンボンはハナショウガから大量に単離精製できる共役二重結合をもつセスキテルペンで、資源循環型の原料として筆者が注目している化合物である。ゼルンボンの興味深い反応性が明らかとなってきただけではなく、数多くの新規化合物も得られ、そのなかからHK自己リン酸化阻害効果をもつ化合物が見いだされたのであ



スキーム

る。またイミダゾール誘導体の一つであるNH125は強いYycG自己リン酸化阻害活性を示し、同時に多剤耐性菌の一種であるMRSAや、VREにも良好な抗菌作用を示した。したがって、この開発戦略が次世代型抗生物質を産み出す指標として間違っていない方向性を示していると強く確信できる結果が得られたものと思っている。現在、TCS阻害剤として

HK自己リン酸化阻害のみならず、HK二量体形成、HK-RRリン酸転移、RR自己リン酸化ならびにRR二量体形成をそれぞれ単独に評価するシステムを利用して、TCSを網羅的に制御する薬剤の開発研究も展開している。また、データの蓄積があるHKの自己リン酸化を指標に、コンピュータ・ケミストリーを駆使してより選択的な阻害剤をデザインする研究も平行して行い、この日本から初の抗耐性菌型薬剤を創り出すことができたと闘志を燃やしている。

TCS評価系研究は近畿大学農学部、内海龍太郎教授、山本兼由助手の共同研究で行われました。ここに深謝致します。

- 1) M. Matsushita, K. D. Janda, *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 855(2002). 2) T. Kitayama, K. Yamamoto, R. Utsumi, M. Takatani, R. K. Hill, Y. Kawai, S. Sawada, T. Okamoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **65**, 2193(2002). 3) K. Yamamoto, T. Kitayama, S. Minagawa, T. Watanabe, S. Sawada, T. Okamoto, R. Utsumi, *ibid.*, **65**, 2306(2002). 4) K. Yamamoto, T. Kitayama, N. Ishida, T. Watanabe, H. Tanabe, M. Takatani, T. Okamoto, R. Utsumi, *ibid.*, **64**, 919(2000).

## 抗エイズ薬の現状は？

京都薬科大学薬品化学教室  
Sohma 相馬 Youhei 洋平 Kiso 木曾 Yoshiaki 良明

抗エイズ薬としてのHIVプロテアーゼ阻害剤が、基質遷移状態概念に基づいて理論的にデザインされ、合成された。HIVのライフサイクルのなかで、明確な選択性をもって攻められるHIVプロテアーゼ阻害剤は、実際の臨床試験において理論どおりの効果を示し、大きな期待をもって承認された。この新しい作用機構によるHIVプロテアーゼ阻害剤の導入により、先進国などではHAART(高活性抗ウイルス療法)と呼ばれる併用療法が広く行き渡り、エイズによる死亡者が激減している。しかし一方では、大量投与による患者への負担や、HIVプロテアーゼ阻害剤に対する耐性も深刻な問題であり、これらの克服が大きな課題となっている。

### エイズ治療薬としての HIVプロテアーゼ阻害剤

後天性免疫不全症候群(エイズ)の原因となるヒト免疫不全

ウイルス(HIV)は、自身もつプロテアーゼの作用によって、前駆体タンパク質からウイルスの酵素(プロテアーゼ自身、逆転写酵素、インテグラーゼ)と構造タンパク質を生成し、感染ウイルスへと導かれる。このステップはHIVの増殖に必須であり、HIVプロテアーゼを阻害することは、有効なエイズ治療薬の創製につながるわけである。

HIVプロテアーゼは99個のアミノ酸から成っており、25~27位にアスパルテックプロテアーゼ活性中心に特徴的なAsp-Thr-Gly配列をもち、ホモダイマーを形成することによりその活性を発現している。活性中心での二つのAsp残基の触媒作用により、図1のような、テトラヘドラルな遷移状態を経て基質のペプチド結合を加水分解している。この遷移状態を模倣した分子で、活性中心のAsp残基と安定な非共有結合複合体を形成させ、酵素機能を阻害する考え(基質遷移状態概念)が提案された。早期においては、血圧調節に關与す