

【目的】医療関連感染症の原因菌として最も多くみられるのが嫌気性菌であり (10~25%)、その中でも *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) が原因で発症する抗菌薬関連腸炎や偽膜性大腸炎などの多様な *Clostridioides difficile* Infection (CDI) が世界的な問題となっている。CDI の深刻な問題として、重症化による死亡例はもちろん、その高い再発率が挙げられる。事実、CDI 患者の 20~35% は一度目の抗菌薬投与では完治することがなく、そのうちの 40~60% に症状の再燃が起きている。その様な背景のもと、大村智記念研究所で 1985 年に、放線菌 *Streptomyces* sp. OMR-59 株の培養液から嫌気性菌に対し選択的な抗菌活性を示す 10 員環、14 員環を有するマクロライド化合物ルミナミシンが見出された (下図)。ルミナミシンは嫌気性菌に対して選択的な抗菌活性を示す特徴を有している。実際に、臨床分離 *C. difficile* 株を用いた評価によると、MIC (minimum inhibitory concentration) = 0.25~2  $\mu$ g/mL であることが分かり、既存薬である vancomycin (MIC=0.5~2  $\mu$ g/mL) と同等の抗菌活性を示すことが明らかとなった。さらに、ルミナミシンは当研究所が有するハムスター *C. difficile* 感染モデルの系において、既存薬のバンコマイシンより優れた治療効果を示すことが明らかになっている。以上のように、ルミナミシンは既存薬とは異なる抗菌スペクトルと特徴的な構造を有することから新規作用機序を有することが期待される。しかしながら、その高い抗感染症薬としての潜在能力にも関わらず、ルミナミシンの抗菌活性メカニズムは明らかになっていない。そこで、本研究では新規抗感染症薬の創製を目指し、ルミナミシンの抗嫌気性菌活性の作用機序解明を目的に研究を行う。

【方法】まず *Streptomyces* sp. を培養し、天然物ルミナミシンを取得した。そして、作用機構解明に向けて、野生株 *C. difficile* (ATCC BAA-1382 strain 630) に対し、繰り返しルミナミシンで薬剤処理後、継代培養することでルミナミシン耐性株を取得した。そして、それぞれの株の total DNA を抽出し、変異点解析を行った。耐性化に必要な因子を解析し、標的分子の絞り込みを行った。さらに、天然物から新規誘導体を合成し、臨床分離株を含む 27 種類の病原体に対する抗菌活性を評価した。

【結果】野生株と取得したルミナミシン耐性株の total DNA を抽出し、変異点解析を行った結果、RNA polymerase に関わる遺伝子には変異が見られなかったことから、既存薬であるフィダキソマイシンとは異なる作用機序であると推測された。また、CwpV という細胞壁のタンパク質の可変部位をコードする遺伝子が欠損し、機能未知のタンパクをコードする遺伝子部分に変異していることがわかった。誘導体合成と活性評価の結果、ルミナミシン全体が活性発現に重要であり、特に無水マレイン酸、エノールエーテルといった高い求電子性官能基が活性に重要であることがわかった。その中でも、プロパルギルアミンを導入したマレインイミド体は嫌気性菌である *C. perfringens* に 1.0 mg/mL で活性を示した。本化合物はケミカルプローブとして活用できるため、今後の結合タンパクの同定に大きな知見を得ることができた。

放線菌由来マクロライドルミナミシンの構造

*Streptomyces* sp. OMR-59