

氏 名 (生年月日) ^{ひ ぐち}樋 口 ^{さい と}才 飛 (1977 年 11 月 14 日)

学 位 の 種 類 博 士 (薬 学)

学 位 記 番 号 博 第 152 号

学位授与の日付 2014 年 3 月 15 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学 位 論 文 題 目 新規キノロン系抗菌薬 **DS-8587** の抗 *Acinetobacter baumannii* 活性に関する研究

論 文 審 査 委 員 (主査) 教 授 高 田 寛 治

(副査) 教 授 安 井 裕 之

(副査) 教 授 西 口 工 司

論 文 内 容 の 要 旨

はじめに

グラム陰性桿菌である *Acinetobacter baumannii* は、肺炎、血流感染症、尿路感染症、皮膚軟部組織感染症といった院内感染症を引き起こす。近年、*A. baumannii* の既存抗菌薬に対する耐性化が深刻な問題となっている。キノロン系抗菌薬に対する耐性化は進行し、かつては良好な活性を

示していた ciprofloxacin や levofloxacin に対する耐性菌が全世界で蔓延している。さらに β -ラクタム系抗菌薬であるカルバペネム、アミノグリコシド系抗菌薬、およびキノロン系抗菌薬の全てに耐性を示す多剤耐性 *A. baumannii* が出現し、当該菌に有効な新規抗菌薬の開発が望まれている。

その耐性機構として、 β -ラクタム系抗菌薬を分解する β -ラクタマーゼ産生、抗菌薬排出システムの過剰発現、外膜透過性の低下、標的変異などが挙げられる。キノロン系抗菌薬に対する耐性機作として、標的酵素である DNA gyrase あるいは DNA topoisomerase IV の変異によるキノロンとの親和性低下、抗菌薬排出システムである RND 型の AdeABC および MFS 型の AbeM の発現亢進が報告されている。キノロン系抗菌薬は、高い抗菌活性、幅広い抗菌スペクトラム、および短時間殺菌作用を有し、 β -ラクタム系抗菌薬やアミノグリコシド系抗菌薬と作用機作が異なることから長年臨床で使用されてきた抗菌薬である。本研究では、新規キノロン系抗菌薬である DS-8587 の ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対する活性を検討することにより、新規抗 *A. baumannii* 薬としての資質を検証した。

1. DS-8587 の *A. baumannii* に対する *in vitro* 抗菌作用の検討

DS-8587 の i) ciprofloxacin 耐性および多剤耐性 *A. baumannii* に対する抗菌活性、ii) 殺菌作用、および iii) 耐性菌出現頻度について検討した。39 株の ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対する DS-8587 の抗菌活性を測定したところ、被験菌株の 90% の発育を阻止する濃度である MIC₉₀ は 2mg/L であり、ciprofloxacin と比べて 32 倍以上、levofloxacin と比べて 16 倍活性が高いことが分かった。7 株の多剤耐性 *A. baumannii* に対する DS-8587 の MIC range は 0.25-2 mg/L であり、他系統抗菌薬を上回る高い活性を示した。また、DS-8587 はキノロン系抗菌薬の特長である短時間殺菌力が認められ、ciprofloxacin より耐性菌出現頻度が低かった。これらの結果から、DS-8587 は ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対して高い活性を示すことが明らかとなった。

2. キノロン耐性機序による DS-8587 の抗菌活性の変化

DS-8587 が ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対して高活性を示す要因を検討するため、*A. baumannii* の ciprofloxacin 耐性機作が DS-8587 の抗菌活性に及ぼす影響について検討した。31 株の ciprofloxacin 耐性株を用いて抗菌薬排出システム阻害薬である 1-(1-naphthylmethyl)- piperazine (NMP) 添加時の抗菌活性を測定したところ、NMP 添加により MIC が 4 倍以上変動する株が ciprofloxacin では 7 株であったのに対し、DS-8587 では 3 株であることを見出した。次に、キノロン系抗菌薬の標的酵素である DNA gyrase および DNA topoisomerase IV の両方に変異を有する ciprofloxacin 耐性株で DS-8587 の両酵素に対する阻害活性を測定したところ、ciprofloxacin と比べて DNA gyrase では 8.4 倍、DNA topoisomerase IV では 5.6 倍高い標的酵素阻害活性であることを見出した。この結果から、DS-8587 の特徴的な側鎖が高い阻害活性に寄与していることが推測された。また、抗菌薬排出システムについて検討するため、実験室で作製した *adeABC* 高発現株および *abeM* 高発現株に対する抗菌活性を測定したところ、DS-8587 は ciprofloxacin と比べて親株と高発現株との MIC 変動幅が小さいことが分かった。以上の結果から、DS-8587 が ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対して優れた抗菌活性を示す要因として、標的酵素阻害活性が強く、抗菌薬排出システムの影響を受けにくいことが明らかとなった。

3. 多剤耐性 *A. baumannii* を用いたマウス腓腹筋感染モデルにおける DS-8587 の抗菌効果

In vitro で見出された DS-8587 の高い抗 ciprofloxacin 耐性および多剤耐性 *A. baumannii* 活性が *in vivo* 抗菌効果にも反映されるか検討するため、また、DS-8587 の臨床効果を最大限にするための投与方法を明らかにし、抗菌効果を得るために必要な PK/PD パラメーター値を算出するため、既存抗菌薬において臨床効果との相関性が示されているマウス腓腹筋感染モデルを用いて、DS-8587 の多剤耐性 *A. baumannii* に対する *in vivo* 抗菌効果を検討した。各用量を 2、4、あるいは 8 分割して DS-8587 を投与したところ、分割投与による抗菌作用の増強あるいは減弱は認められず、計 256 mg/kg を投与することにより *in vivo* 抗菌効果が認められた。Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) 解析により、腓腹筋内の菌数は AUC/MIC に相関することが分かった。

また、腓腹筋内の菌数増加を抑制するために必要な AUC/MIC は 29.4 であることを見出した。以上の結果より、DS-8587 は多剤耐性 *A. baumannii* に対して *in vivo* 抗菌効果を示し、その効果は AUC/MIC が 29.4 で認められることが明らかとなった。

総括

本研究により、新規キノロン系抗菌薬 DS-8587 が ciprofloxacin 耐性および多剤耐性 *A. baumannii* に対して高い *in vitro* 活性および *in vivo* 抗菌効果を示すことを明らかにした。この結果は、本薬の臨床試験推進を支持する結果である。DS-8587 の *in vivo* 抗菌効果には AUC が重要であることが明らかとなったが、キノロン系抗菌薬は大動物になるにつれて体内からの消失が遅くなる傾向があり、ヒトではマウスよりも低い用量で目標とする AUC に達することが期待される。第 1 相試験での DS-8587 投与量と AUC の相関関係、それを基に決められる用法・用量で第 2 相試験での効果が認められるかが上市へ向けた課題の 1 つである。今後、本薬が臨床試験を経て上市され、*A. baumannii* による感染症に苦しむ患者を救うことが期待される。

審査の結果の要旨

肺炎、血流感染症、尿路感染症、皮膚軟部組織感染症といった院内感染症を引き起こすグラム陰性桿菌 *Acinetobacter baumannii* のキノロン系抗菌薬に対する耐性菌が全世界で蔓延している。さらに β -ラクタム系抗菌薬であるカルバペネム、アミノグリコシド系抗菌薬、およびキノロン系抗菌薬の全てに耐性を示す多剤耐性株が出現し、当該菌に有効な新規抗菌薬の開発が望まれている。申請者は、新規キノロン系抗菌薬である DS-8587 の ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対する活性を検討することにより、新規抗 *A. baumannii* 薬としての資質を検証した。

1. DS-8587 の *A. baumannii* に対する *in vitro* 抗菌作用の検討

DS-8587 の i) ciprofloxacin 耐性および多剤耐性 *A. baumannii* に対する抗菌活性、ii) 殺菌作用、および iii) 耐性菌出現頻度について検討している。すなわち、臨床分離 ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対する DS-8587 の抗菌活性を測定したところ、ciprofloxacin と比べて 32 倍以上、levofloxacin と比べて 16 倍活性が高いことを明らかにした。さらに、DS-8587 は他系統の抗菌薬を上回る高い抗菌活性と短時間殺菌力を有すること、また耐性菌出現頻度が低いことを明らかにしている。これらの結果から、DS-8587 は ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対して高い活性を示すことが明らかとなった。

2. キノロン耐性機序による DS-8587 の抗菌活性の変化

DS-8587 が ciprofloxacin 耐性 *A. baumannii* に対して高活性を示す要因を次のように検討した。ciprofloxacin 耐性株を用いて抗菌薬排出システム阻害薬である 1-(1-naphthylmethyl)- piperazine (NMP) 添加時の抗菌活性の測定および排出システムの高発現株での抗菌活性の研究から DS-8587 は排出システムによって排出されにくいこ、さらに DNA gyrase および DNA topoisomerase IV の両方標的酵素阻害活性高いことを明らかにした。

3. 多剤耐性 *A. baumannii* を用いたマウス腓腹筋感染モデルにおける DS-8587 の抗菌効果

マウス腓腹筋感染モデルを用いて、DS-8587 の多剤耐性 *A. baumannii* に対する *in vivo* 抗菌効果および Pharmacokinetic- pharmacodynamic (PK/PD) 解析を行い、AUC/MIC が 29.4 で顕著な *in vivo* 抗菌効果が認められることを明らかにした。

以上のように、申請者は DS-8587 の抗菌活性の基礎的研究を行い、本キノロン薬が抗 *Acinetobacter baumannii* 感染症に有効である基礎的知見を得た。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。