

[総 説]

β-ラクタマーゼの機能分類

石井良和

東邦大学医学部微生物・感染症学講座感染制御学部門

(平成 26 年 7 月 25 日受付)

β-ラクタム系薬は、高い有効性に加え、アレルギーを除くと毒性が少ないことから抗菌化学療法において重要な役割を果たしている。β-ラクタマーゼに関する最初の論文は 1940 年に Abraham と Chain によって報告された。現在、グラム陰性菌における β-ラクタム系薬に対する耐性が菌種間で簡単に伝達されるプラスミドに関連していることを、多くの臨床医師や臨床技師、薬剤師、看護師は知っている。β-ラクタマーゼによる β-ラクタム系薬耐性は、プラスミド性の AmpC、基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBLs) およびカルバペネマーゼ、特に CMY ファミリーの AmpC 型、CTX-M-ファミリーの ESBLs、セリン型カルバペネマーゼの KPC ファミリー、さらには IMP、VIM と NDM などのメタロ-β-ラクタマーゼと関連している。現在までに 1500 以上の β-ラクタマーゼが報告されており、β-ラクタマーゼの分類は、非常に複雑なものになった。本稿では、最新の β-ラクタマーゼの分類を概説する。

**Key words:** β-lactamase, classification, function

はじめに

β-ラクタマーゼの分類は分かりにくいとよく言われる。筆者は 30 年に亘って β-ラクタマーゼの研究に取り組んでいるが、確かに現在の分類は 30 年前と比較すると比較にならないくらい複雑になっている。筆者は、β-ラクタマーゼの研究およびその分類で世界に名を馳せた澤井哲夫先生、井上松久先生、三橋進先生に教を乞い、研究の深水にはまった。はじめに代えて分類の歴史について振り返りたい。

世界に先駆けて β-ラクタマーゼの分類を試みたのは日本の Sawai, Mitsuhashi & Yamagishi であった<sup>1)</sup>。彼らは、β-ラクタマーゼが分解する抗菌薬の種類、すなわち基質特異性に基づいてペニシリン系抗菌薬を分解する β-ラクタマーゼを分類した。その後、Richmond & Sykes 分類や Inoue & Mitsuhashi らによって β-ラクタマーゼの分類法が提唱された (表 1)<sup>2)3)</sup>。Inoue & Mitsuhashi 分類は、極めて良く考えられておりペニシリン系薬を分解するペニシリナーゼや

セファロsporin 系薬を分解するセファロsporin ーゼ、セフロキシムを分解するセフロキシマーゼなど、Richmond & Sykes と比較して、より詳細且つ臨床検査でも使いやすい分類であった。

1980 年代には様々な多種・多様な β-ラクタマーゼが報告され、生化学的性状を基に分類すると非常に多くのクラス・サブクラスに分類することになった。Ambler は、β-ラクタマーゼに保存されているアミノ酸配列を基にした単純・明快な分類を提唱した (表 2)<sup>4)</sup>。この分類は、基質特異性を考慮しないで分類されたが、各クラスに分類された β-ラクタマーゼを見ても、それらの基質特異性と関連性がない訳ではなかった。すなわち、クラス A に属する酵素はペニシリン系薬、クラス C に属するものはセファロsporin 系薬、クラス D に属するものはオキサシリンを分解する酵素がそれぞれ分類されていた。クラス B には、その活性に亜鉛が必要な、カルバペネム系薬を含むほぼ全ての β-ラクタム系薬を分解する酵素が分類されていた。現在でも、Ambler らが提唱した分類を使う研究者は少なくない。しかし、臨床検査では保存されたアミノ酸配列を基にする分類は使いやすいものではないことも事実である。

1995 年に Bush らは Ambler の分類を基本的に維持

著者連絡先：(〒143-8540) 東京都大田区大森西 5-21-16  
東邦大学医学部微生物・感染症学講座  
感染制御学部門  
石井良和

表1.  $\beta$ -ラクタマーゼの Inoue & Mitsuhashi 分類 (文献9を改変)

$\beta$ -ラクタマーゼ型	遺伝子の存在様式*	菌種	産生様式**	
ペニシリンナーゼ	PCaseV	<i>S. aureus</i>	i (c)	
		<i>N. gonorrhoeae</i>	c	
		<i>H. influenzae</i>	c	
	PCaseI	R プラスミド	グラム陰性菌	c
				c
PCaseII		c		
PCaseIII		c		
PcaseIV		c		
セファロスポリナーゼ	Csase	染色体性		
		<i>E. coli</i>	c	
		<i>P. rettgeri</i>	i	
		<i>P. morgani</i>	i	
		<i>E. cloacae</i>	i	
		<i>C. freundii</i>	i	
		<i>S. marcescens</i>	i	
<i>P. aeruginosa</i>	i			
セフトキシマーゼ	Cxase	染色体性		
		<i>B. fragilis</i>	c	
		<i>P. vulgaris</i>	i	
		<i>P. cepacia</i>	i	

\* : r プラスミドは非伝達性プラスミド, R プラスミドは伝達性プラスミドを示している。 \*\* : i は誘導型, c は構成型をそれぞれ示している。

表2. Ambler 分類において各クラスの  $\beta$ -ラクタマーゼに保存されているアミノ酸モチーフ (筆者作成)

クラス	活性中心	エレメント1	エレメント2	エレメント3
A	セリン	S-X-X-K	S-D-N S-D-S	K-T-G K-S-G
B	亜鉛		<sup>116</sup> His <sup>118</sup> His <sup>196</sup> His*	
			<sup>120</sup> Asp <sup>221</sup> Cys <sup>263</sup> His**	
C	セリン	S-X-X-K	Y-A-N	K-T-G
D	セリン	S-X-X-K	Y-G-N	K-T-G

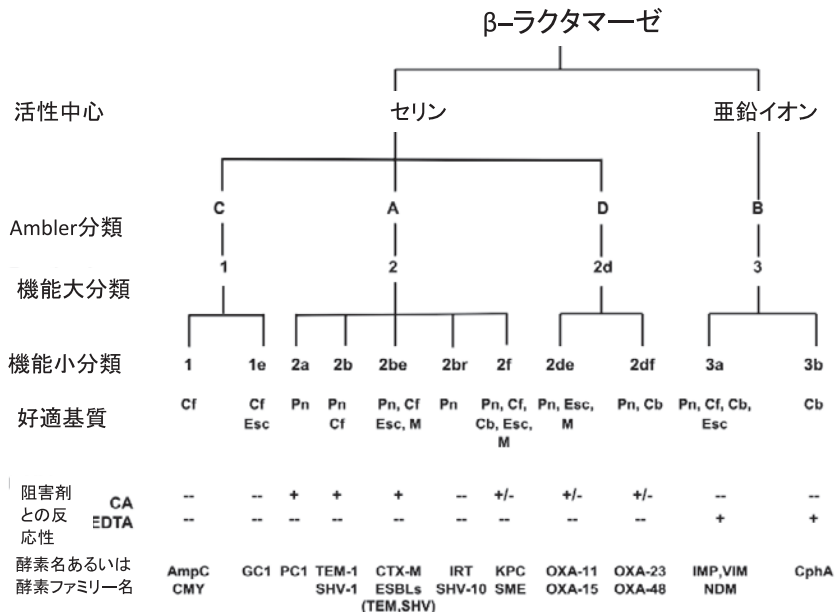
\* : 一分子目の亜鉛を保持するのに必要なアミノ酸残基, \*\* : 2 分子目の亜鉛を保持するのに必要なアミノ酸残基

し, さらに基質特異性と阻害剤との反応性を加味した分類法を提唱した。Bush らは  $\beta$ -ラクタマーゼを 1~3 までのグループに大別し, その中を基質特異性や阻害剤との反応性の違いを基に細分類した (図1)<sup>5)6)</sup>。本稿では, 2010 年に Bush & Jacoby が報告した分類に沿って,  $\beta$ -ラクタマーゼの特徴について概説する。

### $\beta$ -ラクタマーゼとは

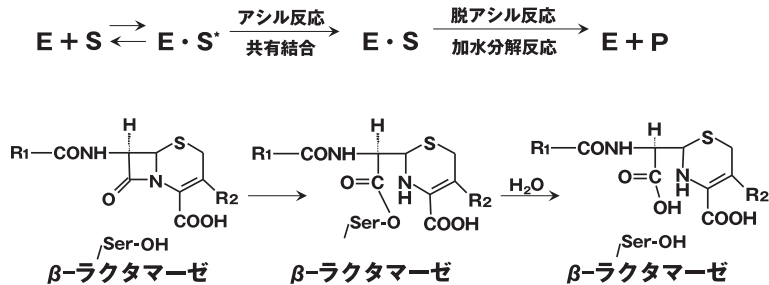
$\beta$ -ラクタマーゼは,  $\beta$ -ラクタム環のペプチド結合のみを基質として加水分解する, ペプチダーゼに分類される。 $\beta$ -ラクタマーゼの起源は  $\beta$ -ラクタム系薬の

標的タンパクである, 細胞壁合成酵素群の Penicillin Binding Proteins (PBPs) とされている<sup>7)</sup>。PBPs は, D-Alanyl-D-Alanin を基質とするトランスペプチダーゼ, トランスグルコシラーゼあるいはカルボキシペプチダーゼの機能を有している。PBPs も  $\beta$ -ラクタマーゼも  $\beta$ -ラクタム環とアシル結合を形成することができる。しかし, PBPs は,  $\beta$ -ラクタム系薬と結合した後の化学反応が起こらないため, 一度結合した  $\beta$ -ラクタム系薬を放出することが出来ない<sup>8)</sup>。すなわち,  $\beta$ -ラクタム系薬とアシル結合を形成した PBPs は, 完全に失活し, 本来の細胞壁合成酵素として働くことが



略号: Pn, ペニシリン系薬; Cf, 第一世代セファロスポリン系薬; Esc, 広域セファロスポリン系薬; M, モノバクタム系薬; Cb, カルバペネム系薬; CA, クラブラン酸; EDTA, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム; +, 阻害有; -, 阻害無; +/-, 酵素により異なる

図1. β-ラクタマーゼのBush & Jacoby分類とAmblerのクラス分類の関係(文献5,6を改変)



E: β-ラクタマーゼ、S: β-ラクタム系薬、E・S': ミカエリスメンテン複合体、E・S: アシル中間体、P: 反応産物をそれぞれ示している。β-ラクタマーゼは基質とミカエリス・メンテン複合体を経てβ-ラクタマーゼのセリン残基を介してアシル中間体を形成する。その後、β-ラクタマーゼ分子中に存在する水分子がアシル結合部位を攻撃し、脱アシル反応が生じる。その結果、β-ラクタマーゼは、β-ラクタム系薬の加水分解生成物を産生する。

図2. セリンβ-ラクタマーゼの加水分解反応(筆者作成)

出来ず、細菌の細胞壁の脆弱なところから溶菌が起こり菌は死滅する。

一方、β-ラクタマーゼは、PBPと同様にβ-ラクタム系薬との間にアシル結合を形成し、次いで脱アシル反応が起こり、β-ラクタム系薬の加水分解産物を

生成する(図2)<sup>9)</sup>。β-ラクタマーゼは、腸内細菌科からブドウ糖非発酵菌、モラクセラ属菌、インフルエンザ菌などのグラム陰性菌が産生する、β-ラクタム系薬に対するグラム陰性菌の主要な耐性機構である<sup>5)10)~12)</sup>。

### グループ 1 (Ambler 分類のクラス C)

グループ 1 に属する  $\beta$ -ラクタマーゼは、AmpC と呼ばれ、グラム陰性菌の多くがその遺伝子は染色体上に存在する。本グループに属する酵素は、Ambler の分類ではクラス C に属し、セファロスポリン系薬を分解し、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤やキレート剤の影響は受けないが、ポロン酸やクロキサシリンなどによりその活性が阻害される<sup>10)13)</sup>。

肺炎桿菌あるいは *Proteus mirabilis* は染色体上に *ampC* が存在しない。また、大腸菌や赤痢菌、サルモネラ属菌は染色体上に *ampC* が存在しても殆ど産生されない。そのような菌種の中にも、グループ 1 に属する  $\beta$ -ラクタマーゼを産生する菌株が散見される。これらの菌株は、グラム陰性菌の染色体上に存在している  $\beta$ -ラクタマーゼをコードする遺伝子が転移したプラスミドを保有することにより、AmpC を獲得した。これらのグループ 1 に属する  $\beta$ -ラクタマーゼは、プラスミド性 AmpC と呼ばれている<sup>13)</sup>。

セフォタキシムなどの AmpC に安定な第三世代セファロスポリン系薬やセファマイシン系薬に耐性を示し、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤の共存下で感受性が回復しない *Enterobacter* 属菌や *Citrobacter* 属菌、緑膿菌などが分離されることがある。後述するサブグループ 2be に属する、いわゆる基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株は第三世代セファロスポリン系薬に耐性を示すが、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤に感受性を示す。通常、AmpC の発現は  $\beta$ -ラクタム系薬の存在した時のみ発現するように制御されている。 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤非感受性で第三世代セファロスポリン系薬耐性株はその制御 (抑制) 機構が破綻したため、 $\beta$ -ラクタマーゼを常時産生してペリプラスム空間に大量に蓄積している<sup>14)</sup>。その大量に蓄積された  $\beta$ -ラクタマーゼはペリプラスム空間に侵入した第三世代セファロスポリン系薬と結合して、ゆっくりと分解する。このような菌株は、第三世代セファロスポリン系薬やセファマイシン系薬にも高い MIC 値を示すことができる。プラスミド性 AmpC 産生株も酵素を大量に産生するため、上述の耐性株と同様、本来感受性を示すはずの第三世代セファロスポリン系薬やセファマイシン系薬に高い MIC 値を示す。また、後述するグループ 3 に属する  $\beta$ -ラクタマーゼを産生しないが、カルバペネム系薬に中間あるいは低度耐性を示す菌株が分離されることがある。このような菌株の非感受性メカニズムとして AmpC の大量産生およびカルバペネム系薬の主要透過孔であるポーリン孔を形成タンパク質の減少あるいは欠損が挙げられる<sup>15)</sup>。

### グループ 2 (Ambler 分類のクラス A および D)

#### サブグループ 2a

サブグループ 2a に属する  $\beta$ -ラクタマーゼは、ブドウ球菌を含むグラム陽性菌が産生し、ペニシリンやアンピシリンを好適基質とする狭域の基質特異性を有する。Ambler の分類ではクラス A に分類される  $\beta$ -ラクタマーゼである。ペニシリンの分解速度を 100% とした、セファゾリンなどセファロスポリン系薬に対する相対加水分解速度は 10% 以下である<sup>16)17)</sup>。すなわち、サブグループ 2a に属する酵素産生株はセファロスポリン系薬に感性を示す。

サブグループ 2a に属する酵素は、クラブラン酸およびタゾバクタムによって良く分解され、その IC<sub>50</sub> 値 (50% 阻害濃度) は 1  $\mu$ M 未満と低値を示す。本酵素をコードする遺伝子の多くは染色体上にコードされているが、ブドウ球菌属の中には 2a に属する酵素をコードする遺伝子をプラスミド上に保有している菌が存在する<sup>6)</sup>。

#### サブグループ 2b

サブグループ 2b に属する酵素はグラム陰性菌が産生する。サブグループの後に“b”が付された酵素も Ambler の分類ではクラス A に属している。2b はペニシリン系薬およびセファロチンやセファロリジンのような第一世代セファロスポリンを分解し、クラブラン酸およびタゾバクタムによって強く阻害を受ける<sup>5)6)</sup>。TEM-1、TEM-2 および SHV-1 などが本サブグループに属している。

#### サブグループ 2be

基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase : ESBL) がサブグループ 2be に属している。サブグループ 2be に属する TEM-型および SHV-型酵素は、サブグループ 2b に属する酵素にアミノ酸の置換変異が生じた変異酵素である (表 3)<sup>9)</sup>。サブグループ 2be に属する  $\beta$ -ラクタマーゼは、2b が分解できなかったオキシイミノ基を有するセフォタキシム、セフトジジムあるいはアズトレオナムなどを分解する<sup>5)6)</sup>。これらの抗菌薬に対する 2be に属する  $\beta$ -ラクタマーゼのオキシイミノセファロスポリンに対する相対加水分解速度は、ペニシリンを 100% とした場合、10% 以上である<sup>18)</sup>。

現在、2be に属する酵素の中で CTX-M-型酵素は急速に拡散している。CTX-M-型  $\beta$ -ラクタマーゼの起源となる酵素の遺伝子は、*Kluyvera* 属菌の染色体上に存在する (表 4)<sup>19)20)</sup>。CTX-M-型  $\beta$ -ラクタマーゼの多くの酵素がセフォタキシムをセフトジジムと比較して効率よく分解することが特徴である。さらに、CTX-

表3. TEM-型およびSHV-型ESBLに見られるアミノ酸置換例

β-ラクタマーゼ	アミノ酸残基：					
	39	104	164	238	240	265
TEM-1	Q	E	R	G	E	T
TEM-2	K					
TEM-3	K	K		S		
TEM-8	K	K	S	S		
TEM-15		K		S		
SHV-1	Q	D	R	G	E	L
SHV-2				S		
SHV-3			L	S		

<http://www.lahey.org/Studies/>から抜粋引用

略号：D, アスパラギン酸；E, グルタミン酸；G, グリシン；K, リジン；L, ロイシン；Q, グルタミン；R, アルギニン；S, セリン；T, トレオニン

表4. CTX-M-型酵素とその起源酵素の関係

CTX-M-サブグループ名	報告年	報告国	酵素名	主要酵素名	起源
CTX-M-2	1986	日本	FEC-1	CTX-M-4, CTX-M-44	<i>Kluyvera ascorbata</i>
CTX-M-3	1989	ドイツ	CTX-M-1	CTX-M-1, CTX-M-15	<i>Kluyvera ascorbata</i>
CTX-M-8	1996	ブラジル	CTX-M-8	CTX-M-40	<i>Kluyvera ascorbata</i>
CTX-M-9	1994	スペイン	CTX-M-9	CTX-M-14, CTX-M-27	<i>Kluyvera georgiana</i>
CTX-M-25	2000	カナダ	CTX-M-25	CTX-M-26, CTX-M-41	不明

M-型酵素の多くは、セフェピムも加水分解する。CTX-M-型酵素は、クラブラン酸と比較してタゾバクタムで強く阻害される<sup>7)12)</sup>。

サブグループ2beには、BEL-1, BES-1, SFO-1, TLA-1, TLA-1, さらにPER-型およびVEB-型酵素などが属している。2beに属する酵素に共通するクラブラン酸に対する高い感受性は、臨床検査でESBL産生株の検出に利用することができる<sup>5)6)</sup>。

また、臨床材料から分離される *Klebsiella oxytoca* の中には、ESBLと区別できないKOKYあるいはKIと呼ばれるβ-ラクタマーゼを産生する菌株が存在する。最近、Bushは当該酵素を2be、すなわちESBLに分類することを提唱している<sup>11)</sup>。

#### サブグループ2br

サブグループ2brは、クラブラン酸による阻害に耐性を獲得したβ-ラクタマーゼであるが、基質特異性は2bと同様である。サブクラス2brには、TEM-30やTEM-31など36種類のTEM-型β-ラクタマーゼおよびSHV-10など5種類のSHV-型β-ラクタマーゼが属している<sup>5)</sup>。

#### サブグループ2ber

サブグループ2berはESBLおよびクラブラン酸の阻害に耐性を示すという2brの性質を併せ持つβ-ラクタマーゼである。2berに属するβ-ラクタマーゼとして、CMT (complex mutant TEM) と命名されているβ-ラクタマーゼおよびTEM-50 (CMT-1) が報告されている<sup>21)</sup>。

#### サブグループ2c

サブグループ2cは、カルベニシリンあるいはチカルシリンに対する相対加水分解速度が、ペニシリンの加水分解速度を100%とした場合、60%以上のものである。本酵素は、クロキサシリンやオキサシリンの相対加水分解速度は50%以下である。グループ2cに属する酵素はクラブラン酸やタゾバクタムにより強く阻害される。このグループに属するβ-ラクタマーゼは、カルベニシリンに対する薬剤感受性検査をあまり実施されないことから、その検出は困難である<sup>22)</sup>。

#### サブグループ2ce

サブグループ2ceは、基質特異性を拡張したサブグループ2cである。本サブグループに属する酵素は、カルベニシリンに加えてセフェピムおよびセフピロム

を基質とする。これまでに *Acinetobacter baumannii* KAR 株から見出された RTG-4 (CARB-10) のみが報告されている。本酵素もクラブラン酸およびタゾバクタムにより強く阻害される<sup>23)</sup>。

#### サブグループ 2d

サブグループ 2d に属する酵素は、クロキサシリンまたはオキサシリンの相対加水速度がペニシリンのものと比較して 50% 以上を示す酵素である。本サブグループに属する酵素は、OXA-型  $\beta$ -ラクタマーゼとも呼ばれる。サブグループ 2d に属する酵素はカルベニシリンも良く分解し、一部のものは塩化ナトリウムやクラブラン酸により阻害を受ける<sup>5)6)11)12)24)</sup>。

#### サブグループ 2de

サブグループ 2de に属する酵素は、クロキサシリンやオキサシリンに加えてオキシイミノ基を有する  $\beta$ -ラクタム系薬を分解する。2de に属する主要酵素は OXA-10 を起源として、1~9 アミノ酸残基の置換変異が生じた OXA-11 や OXA-15 をはじめとする酵素である。それらの多くはトルコやフランスで分離された緑膿菌から見出された。2de に属する  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株のセフトジジムに対する MIC 値は、セフトキシムまたはアズトレオナムと比較して明らかに高値である<sup>25)</sup>。

#### サブグループ 2df

サブグループ 2df に属する  $\beta$ -ラクタマーゼはカルバベネム系薬を分解する。OXA-51 をコードする遺伝子は *Acinetobacter baumannii* の染色体上に存在する<sup>24)</sup>。さらに、サブグループ 2df に属する OXA-23 や OXA-24/40, OXA-58 などの酵素も *Acinetobacter* 属菌が産生する。一方、OXA-48 や OXA-181 などは腸内細菌科細菌が産生する<sup>26)</sup>。2df に属する  $\beta$ -ラクタマーゼのカルバベネマーゼとしての活性は低く、イミペネムおよびメロペネムに対する  $k_{cat}$  値は  $1 \text{ s}^{-1}$  以下である。ペニシリンおよびオキサシリンの  $k_{cat}$  は、カルバベネム系薬と比較して 40~50 倍大きな値を示している。カルバベネム系薬高度耐性株が保有する 2df に属する酵素をコードする遺伝子は、発現させてもカルバベネム系薬に耐性を示さない。また、2df に属する  $\beta$ -ラクタマーゼも 2d に属する酵素と同様、クラブラン酸による阻害は受けない<sup>24)</sup>。

#### サブグループ 2e

サブグループ 2e に分類されている  $\beta$ -ラクタマーゼは、第三世代・第四世代セファロスポリン系薬を分解し、クラブラン酸やタゾバクタムによる阻害を受ける。本酵素をコードする遺伝子は、プロテウス属菌の染色体上に存在する。サブグループ 2e に属する  $\beta$ -ラ

クタマーゼはサブグループ 1 の AmpC や 2be の ESBL と区別することが困難である。サブグループ 2e の酵素は、アズトレオナムとの親和性が低いことがサブグループ 1 に属する酵素と異なる<sup>5)</sup>。本サブグループに属する酵素数が、将来増加する可能性は低く、将来的に 2be に編入される可能性がある。

#### サブグループ 2f

サブグループ 2f はクラス A に属する  $\beta$ -ラクタマーゼの中でカルバベネム系薬を分解する酵素である。2f に属する酵素は、クラブラン酸と比較してタゾバクタムにより強く阻害されることである。セフトジジムを SME-型及び IMI-型酵素は分解できないがアズトレオナムを分解する。SME-型や IMI-型, NMC-A をコードする遺伝子は染色体上に存在するため、急激にこれらの耐性因子保有株が増加する可能性は高くない<sup>27)</sup>。それと比較して、KPC-型や GES-型をコードする遺伝子はプラスミド上に存在するため、急速に拡散する極めて厄介な耐性因子である。実際に、ニューヨーク市内あるいはイスラエルの病院において KPC-型  $\beta$ -ラクタマーゼ産生グラム陰性菌による院内感染が発生し、現在では世界中に拡散している<sup>27)28)</sup>。

### グループ 3 (Ambler 分類のクラス B)

グループ 3 に属する  $\beta$ -ラクタマーゼは、クラス B あるいはメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ (MBL) とも呼ばれている。グループ 3 に分類される  $\beta$ -ラクタマーゼは、その活性に亜鉛イオンが必須である。また、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤で阻害されないが、ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), dipicolinic acid あるいは 1,10-*o*-phenanthroline などのキレート剤で阻害される。グループ 3 の  $\beta$ -ラクタマーゼを Garau らは構造生物学的見地からサブクラス B1, B2 および B3, Rasmussen & Bush は酵素の基質特異性などから 3a および 3b サブグループにそれぞれ分類した<sup>29)30)</sup>。構造生物学的に分類されたサブクラス B1 と B3 の構造は類似しており、機能的にも差異はない。

#### サブグループ 3a

臨床上重要で酵素の種類が増加しているサブグループ 2a に属する酵素の遺伝子の多くは、プラスミド上に存在する。サブグループ 2a に属する代表的な酵素は、主としてブドウ糖非発酵菌が産生する IMP-型あるいは VIM-型である。最近では、これらの MBL を産生する腸内細菌科細菌も院内感染の原因菌として注目されている。これらサブクラス B1 に属する酵素は、モノバクタム系薬を除く全ての  $\beta$ -ラクタム系薬を加水分解活性する<sup>29)</sup>。



写真1. 第12回β-ラクタマーゼミーティング参加者の記念写真（2014年6月28日～7月1日，Gran Canaria，Canary Islands，Spain）

Garau の分類によるサブクラス B1に加えて，サブクラス B3も Rasmussen & Bush はサブグループ 3a に分類した<sup>29)30)</sup>。Garau のサブクラス B3は，*S. maltophilia* が産生する L1 や CAU-1，GOB-1 および FEZ-1 が含まれる。これらサブグループ 3a に属する酵素は，亜鉛イオンの保持に関与するアミノ酸が互いに異なっている。しかし，Rasmussen & Bush は，両サブクラスが最大の酵素活性を發揮するために2分子の亜鉛イオンが必要なこと，類似の酵素学的パラメータを示すことを根拠に同一のサブグループとした。サブグループ 3a に属する MBL は FEZ-1 を除き，ペニシリン系薬，セファロスポリン系薬およびカルバペネム系薬に対して高い加水分解効率を示すが，モノバクタム系薬を分解しない<sup>30)</sup>。一方，FEZ-1 は，このサブグループとしては例外的にカルバペネム系薬およびペニシリン系薬と比較してセファロスポリン系薬を効率よく分解する<sup>31)</sup>。

#### サブグループ 3b

サブグループ 3b に属する酵素は，ペニシリン系薬およびセファロスポリン系薬と比較してカルバペネム系薬を良く分解する。本酵素の基質特異性は狭く，カルバペネム系薬は分解するがセファロスポリン系薬を分解せず，むしろセファロスポリン系薬で阻害される<sup>32)</sup>。そのような理由から，サブグループ 3b に属する酵素は，ニトロロセフィンを用いて検出することが困

難である。

構造生物学的に，サブグループ 3b に属する酵素は，1分子の亜鉛分子が結合している場合に加水分解効率が最大になる。本サブグループに属する酵素は，3a に属するβ-ラクタマーゼとは対照的に，活性中心に2分子の亜鉛イオンが存在すると酵素活性が低下する<sup>33)</sup>。

#### おわりに

β-ラクタマーゼはその発見から既に70年が経過し，現在ではその数が1500種類に上っている。しかし，β-ラクタマーゼは，その機能をβ-ラクタム環のペプチド結合を開裂させることだけに特化した非常にユニークな酵素である。この単純と思える酵素反応は完全に解明された訳ではない。30年前までの日本にはβ-ラクタマーゼを研究対象とする多くの研究者・研究機関が切磋琢磨し，世界に先駆けた多くの研究を行っていた。残念ながら研究者の多くが企業の研究所に属する研究者だったため，抗菌薬の開発が下火になるにしたがって，日本のβ-ラクタマーゼ研究は衰退の一途を辿った。筆者は，3年毎に世界のβ-ラクタマーゼの研究者が一堂に会して議論するβ-lactamase meeting に参加している。今年はカナリア諸島の Las Palmas で第12回の会議が開催され，94名の研究者が3日間にわたってβ-ラクタマーゼに関して様々な

視点から活発に討論した(写真1)。私が嬉しかったのは、高名な研究者に交じって若い多くの研究者が活発に議論に参加していたことである。一方で、日本からの参加者がいつも一人であることはとても残念なことである。今後、日本でも若い研究者がβ-ラクタマーゼ研究に参画し、国際会議や国際学会で議論する日が訪れることを心から願っている。

## 文 献

- 1) Sawai, T., S. Mitsuhashi, S. Yamagishi. 1968. Drug resistance of enteric bacteria. XIV. Comparison of β-lactamases in Gram-negative rod bacteria resistant to alpha-aminobenzylpenicillin. *Jpn J Microbiol* 12 (4): 423-434.
- 2) Richmond, M.H., R.B. Sykes. 1973. The β-lactamases of Gram-negative bacteria and their possible physiological role. *Adv Microb Physiol* 9: 31-88.
- 3) Mitsuhashi, S., M. Inoue. 1981. Mechanisms of resistance to β-lactam antibiotics, in β-lactam antibiotics (S. Mitsuhashi ed.), p. 41-56, Springer-Verlag, Tokyo.
- 4) Ambler, R.P. 1980. The structure of β-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 289 (1036): 321-331.
- 5) Bush, K., G.A. Jacoby, A.A. Medeiros. 1995. A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 39 (6): 1211-1233.
- 6) Bush, K., G.A. Jacoby. 2010. Updated functional classification of β-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 54 (3): 969-976.
- 7) Massova, I., S. Mobashery. 1998. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and β-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 42 (1): 1-17.
- 8) Frere, J.M., B. Joris. 1985. Penicillin-sensitive enzymes in peptidoglycan biosynthesis. *Crit Rev Microbiol* 11 (4): 299-396.
- 9) Matagne, A., J. Lamotte-Brasseur, J.M. Frere. 1998. Catalytic properties of class A β-lactamases: efficiency and diversity. *Biochem J* 330 (Pt 2): 581-598.
- 10) Bush, K. 1988. β-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin Microbiol Rev* 1 (1): 109-123.
- 11) Bush, K. 2013. The ABCD's of β-lactamase nomenclature. *J Infect Chemother* 19 (4): 549-559.
- 12) Bush, K. 2013. Proliferation and significance of clinically relevant β-lactamases. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1277: 84-90.
- 13) Jacoby, G.A. 2009. AmpC β-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 22 (1): 161-182.
- 14) Johnson, J.W., J.F. Fisher, S. Mobashery. 2013. Bacterial cell-wall recycling. *Ann N Y Acad Sci* 1277: 54-75.
- 15) Rodriguez-Martinez, J.M., L. Poirel, P. Nordmann. 2009. Extended-spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 53 (5): 1766-1771.
- 16) Kernodle, D.S., et al. 1989. Differentiation of β-lactamase variants of *Staphylococcus aureus* by substrate hydrolysis profiles. *J Infect Dis* 159 (1): 103-108.
- 17) Zscheck, K.K., B.E. Murray. 1991. Nucleotide sequence of the β-lactamase gene from *Enterococcus faecalis* HH22 and its similarity to staphylococcal β-lactamase genes. *Antimicrob Agents Chemother* 35 (9): 1736-1740.
- 18) Queenan, A.M., et al. 2004. Effects of inoculum and β-lactamase activity in AmpC- and extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *J Clin Microbiol* 42 (1): 269-275.
- 19) Walther-Rasmussen, J., N. Hoiby. 2004. Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum β-lactamases. *Can J Microbiol* 50 (3): 137-165.
- 20) Bonnet, R. 2004. Growing group of extended-spectrum β-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 48 (1): 1-14.
- 21) Robin, F., et al. 2005. TEM-109 (CMT-5), a natural complex mutant of TEM-1 β-lactamase combining the amino acid substitutions of TEM-6 and TEM-33 (IRT-5). *Antimicrob Agents Chemother* 49 (11): 4443-4447.
- 22) Choury, D., et al. 2000. Nucleotide sequence of the *bla*RTG2 (CARB-5) gene and phylogeny of a new group of carbenicillinases. *Antimicrob Agents Chemother* 44 (4): 1070-1074.
- 23) Potron, A., et al. 2009. Genetic and biochemical characterization of the first extended-spectrum CARB-type β-lactamase, RTG-4, from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 53 (7): 3010-3016.
- 24) Walther-Rasmussen, J., N. Hoiby. 2006. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 57 (3): 373-383.
- 25) Aubert, D., et al. 2001. Oxacillinase-mediated resistance to cefepime and susceptibility to ceftazidime in



- Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 45 (6): 1615-1620.
- 26) Poirer, L., et al. 2004. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 48 (1): 15-22.
- 27) Queenan, A.M., K. Bush. 2007. Carbapenemases: the versatile β-lactamases. Clin Microbiol Rev 20 (3): 440-458, table of contents.
- 28) Bratu, S., et al. 2005. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. Arch Intern Med 165 (12): 1430-1435.
- 29) Garau, G., et al. 2004. Update of the standard numbering scheme for class B β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 48 (7): 2347-2349.
- 30) Rasmussen, B.A., K. Bush. 1997. Carbapenem-hydrolyzing β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 41 (2): 223-232.
- 31) Mercuri, P.S., et al. 2002. Clonal diversity and metallo-β-lactamase production in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. Microb Drug Resist 8 (3): 193-200.
- 32) Segatore, B., et al. 1993. High specificity of *cphA*-encoded metallo-β-lactamase from *Aeromonas hydrophila* AE036 for carbapenems and its contribution to beta-lactam resistance. Antimicrob Agents Chemother 37 (6): 1324-1328.
- 33) Costello, A.L., et al. 2006. X-ray absorption spectroscopy of the zinc-binding sites in the class B2 metallo-β-lactamase ImiS from *Aeromonas veronii* bv. sobria. Biochemistry 45 (45): 13650-13658.

## Functional classification of the β-lactamases

Yoshikazu Ishii

Division of Infection Control and Prevention, Department of Microbiology and Infectious Diseases,  
Toho University School of Medicine

The β-lactam antibiotics play an important role in antibacterial chemotherapy because of their high efficacy combined with a lack of toxicity exception of allergy. First article concerning β-lactamase in *Bacillus coli* was reported by Abraham and Chain by 1940. Now, most of clinical physicians, clinical technologists, pharmacists and nurses have known that resistance to β-lactams in Gram-negative organisms are associated with plasmid which are easily transferred among species. β-Lactam resistance caused by β-lactamase is increasingly associated with plasmidic AmpC, extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) and carbapenemases, specifically the CMY-family of AmpC, the CTX-M-family of ESBLs, the KPC family of serine carbapenemases, and the IMP, VIM and NDM-1 metallo-β-lactamases. Classification of the β-lactamase is quite complicated, because more than 1500 β-lactamases have been reported now. In this review, I will try to update and explain of the classification for β-lactamase.