

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目： 基盤研究（B）  
研究期間： 2006～2009  
課題番号： 18390294  
研究課題名（和文）細菌間情報伝達機構の分子メカニズムの解明と感染症治療への応用に関する研究  
研究課題名（英文）Molecular mechanisms of cell-to-cell signaling in bacteria, and its manipulation for novel therapeutic strategies  
研究代表者  
館田 一博（TATEDA KAZUHIRO）  
東邦大学・医学部・准教授  
研究者番号：20236558

研究成果の概要（和文）：細菌間情報伝達機構の分子メカニズムの解明と感染症治療への応用に関する研究を実施し、その実現に向けた基礎的成果を上げることができた。特に、緑膿菌 autoinducer 分子の他菌種への影響は、interspecies communication の概念からも重要な知見であると考えられる。

研究成果の概要（英文）： We performed the project “Molecular mechanisms of cell-to-cell signaling in bacteria, and its manipulation for novel therapeutic strategies” for 4 years and the significant insight and progress were obtained for further development of this research and clinical application. Especially, the new data regarding interspecies communication observed by pseudomonas autoinducer molecules may be promising.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	5,400,000	0	5,400,000
2007 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2008 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
総計	15,300,000	2,970,000	18,270,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：感染症、病原因子、治療法、細菌間情報伝達

## 1. 研究開始当初の背景

近年、細菌の産生するホルモン様物質 autoinducer を介した Quorum-sensing 機構が注目されている。グラム陰性菌から陽性菌まで臨床的に重要な多くの病原体が本機構を使って病原因子の発現・biofilm 形成等を制御していることが明らかとなっている。さらに最近では、この autoinducer 分子が生体細胞に対しても多彩な影響を及ぼしていることが報告され、菌側・生体側の両面から感染症の病態形成に関与するシステムとして注目されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、緑膿菌の Quorum-sensing 機構に焦点をあて、(i)Quorum-sensing 機構による病原因子発現制御の分子メカニズムの解明、(ii)感染病態形成における Quorum-sensing 機構の役割と重要性、(iii)Quorum-sensing 機構の制御による新しい感染症治療の可能性、について検討した。

## 3. 研究の方法

これまでに、本プロジェクトの最も重要なテーマである“細菌 Quorum-sensing 機構をターゲットとする感染症治療の可能性”について動物実験モデルにおいてその有効性が確認されており、この実験系を用いて研究を展開した。特に、マクロライド剤およびその誘導体の再スクリーニングにより Quorum-sensing 阻害活性が強い化合物がいくつか見出されており、その有効性および臨床応用の可能性について製薬企業とともに研究を実施した。また、Quorum-sensing 機構をターゲットとするワクチン療法の可能性については、これまでに我々が確認していた 3-oxo-C<sub>12</sub>-homoserine lactone だ

けでなく、もう1つの autoinducer 分子である C<sub>4</sub>-homoserine lactone 分子に対するワクチン療法の有効性を確認している。さらに Quorum-sensing 阻害剤による感染症治療の可能性と、その臨床応用を視野に入れた研究を展開を行った。

## 4. 研究成果

これまでに蓄積されてきた結果をさらに発展させ、“細菌 Quorum-sensing 機構をターゲットとする感染症治療の可能性”に関して発表論文に示されたように、その有効性および臨床応用を示唆する成績が得られた①⑥⑩。具体的には、これまで予備実験として確認されてきたいくつかの候補化合物を用いた研究において、緑膿菌の autoinducer 分子の分解産物の *Clostridium difficile* に対する抗菌効果が確認させた⑩。また、15 員環系マクロライド剤であるアジスロマイシンにおいて、マウス緑膿菌感染モデルでその有効性が確認されており、本剤の新しい臨床応用の可能性が示されたものと考えている⑦。また、Quorum-sensing 機構をターゲットとするワクチン療法に関しても、緑膿菌感染が大きな問題となっている欧米における Cystic fibrosis あるいは人工呼吸器関連肺炎などへの応用の可能性について検討し、動物実験モデルでその有効性が確認された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Ueda C, Tateda K, Horikawa M, Kimura S, Ishii Y, Nomura K, Yamada K, Suematsu T, Inoue Y, Ishiguro M, Miyairi S, Yamaguchi K. Anti-Clostridium difficile potential of tetramic acid derivatives from Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing autoinducers. Antimicrob Agents Chemother. 54:683-8. 2010. (査読あり)
- ② Kikuchi Y, Tateda K, Fuse ET, Matsumoto T, Gotoh N, Fukushima J, Takizawa H, Nagase T, Standiford TJ, Yamaguchi K. Hyperoxia exaggerates bacterial dissemination and lethality in Pseudomonas aeruginosa pneumonia. Pulm Pharmacol Ther. 22: 333-9, 2009. (査読あり)
- ③ Aoki N, Tateda K, Kikuchi Y, Kimura S, Miyazaki C, Ishii Y, Tanabe Y, Gejyo F, Yamaguchi K. Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. J Antimicrob Chemother. 63:534-42, 2009. (査読あり)
- ④ Kimura S, Tateda K, Ishii Y, Horikawa M, Miyairi S, Gotoh N, Ishiguro M, Yamaguchi K. Pseudomonas aeruginosa Las quorum sensing autoinducer suppress growth and biofilm production in Legionella species. Microbiology 155: 1934-9, 2009 (査読あり)
- ⑤ Kai T, Tateda K, Kimura S, Ishii Y, Ito H, Yoshida H, Kimura T, Yamaguchi K. A low concentration of azithromycin inhibits the mRNA expression of N-acyl homoserine lactone synthesis enzymes, upstream of lasI or rhII, in Pseudomonas aeruginosa. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics 22: 483-6, 2009. (査読あり)
- ⑥ Fuse ET, Tateda K, Kikuchi Y, Matsumoto T, Gondaira F, Azuma A, Kudoh S, Standiford TJ, Yamaguchi K. Role of Toll-like receptor 2 in recognition of Legionella pneumophila in a murine pneumonia model. J Med Microbiol. 56: 305-12, 2007 (査読あり)
- ⑦ Kimura S, Ishii Y, Tateda K, Yamaguchi K. Predictive analysis of ceftazidime hydrolysis in CTX-M-type beta-lactamase family members with a mutational substitution at position 167. Int J Antimicrob Agents. 29: 326-331, 2007 (査読あり)
- ⑧ Tateda K, Ishii Y, Kimura S, Horikawa M, Miyairi S, Yamaguchi K. Suppression of Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing systems by macrolides: a promising strategy or an oriental mystery? J Infect Chemother 13: 357-367, 2007 (査読あり)
- ⑨ Horikawa M, Tateda K, Tuzuki E, Ishii Y, Ueda C, Takabatake T, Miyairi S, Yamaguchi K, Ishiguro M. Synthesis of Pseudomonas quorum-sensing autoinducer analogs and structural entities required for induction of apoptosis in macrophages. Bioorg Med Chem Lett. 16: 2130-3, 2006 (査読あり)
- ⑩ Tateda K, Kusano E, Matsumoto T, Kimura K, Uchida K, Nakata K, Yamaguchi K. Semi-quantitative analysis of Streptococcus pneumoniae urinary antigen: Kinetics of antigen titers and severity of diseases. Scand J Infect Dis. 2006;38:166-71. (査読あり)
- ⑪ Miyairi S, Tateda K, Fuse ET, Ueda C, Saito H, Takabatake T, Ishii Y, Horikawa M, Ishiguro M, Standiford TJ, Yamaguchi K. Immunization with 3-oxododecanoyl-L-homoserine lactone-protein conjugate protects mice from lethal Pseudomonas aeruginosa lung infection. J Med Microbiol. 55:1381-7, 2006 (査読あり)
- [学会発表] (計 22件)
1. Kimura S, Tateda K, Mori N, Ishii Y, Yamaguchi K. Macrolides modulate virulence factors through an intracellular signaling in Pseudomonas aeruginosa. 49<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2009. 9.23
  2. Saito T, Tateda K, Hosono N, Kimura S, Sumiyama Y, Kusachi S, Nagao J, Yamaguchi K. New evidence of intravenous immunoglobulin as a critical supportive

- therapy against *Clostridium difficile* toxin-mediated lethality in mice. 49<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2009. 9.23
3. Chen Y, Tateda K, Kimura S, Ishii Y, Yamaguchi K. Re-evaluation of diagnosis and host responses of *Legionella pneumophila* pneumonia in a mouse model. 49<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2009. 9.23
  4. Yoshizawa S, Tateda K, Yamaguchi K. Virulence-Suppressing Effects of Linezolid on MRSA: Possible Contribution to Early Defervescence. 48<sup>rd</sup> ICAAC, Washington DC, 2008. 10.15
  5. Ueda C, Tateda K, Kimura S, Ishii Y, Horikawa M, Yamaguchi K. Antibacterial Potential of Tetramic Acid Derived from *Pseudomonas* Quorum-Sensing Autoinducer against *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens*. 48<sup>rd</sup> ICAAC, Washington DC, 2008. 10.15
  6. Tateda K, Sugihara K, Yamamura N, Koga T, Sugihara C, Yamaguchi K. *In Vivo* Efficacy of Tomopenem (formerly CS-023) Human-simulated Exposure against *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA. 48<sup>rd</sup> ICAAC, Washington DC, 2008. 10.15
  7. Fujita K, Tateda K, Kimura S, Saga T, Ishii Y, Yamaguchi K. A novel aspect of interspecies communication in *Candida* and *Pseudomonas*: Co-existence of *Candida* modulates dissemination of and lethality in *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection. 48<sup>rd</sup> ICAAC, Washington DC, 2008. 10.15
  8. Hosono N, Tateda K, Ueda C, Horikawa M, Yamaguchi K. Roles of *Pseudomonas aeruginosa* autoinducers and their degradation products, tetramic acids, in bacterial survival and behavior in ecological niches. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  9. Ueda C, Tateda K, Horikawa M, Kimura S, Ishii Y, Yamaguchi K. Antibacterial potential of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing autoinducers and their degradation products, tetramic acids, against *Clostridium difficile*. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  10. Aoki N, Tateda K, Kimura S, Ishii Y, Yamaguchi K. Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia by multiple drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  11. Sugihara K, Ishii Y, Tateda K, Yamaguchi K. Carbapenemase stability of CS-023 (RO4908463) and other carbapenems. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  12. Sugihara K, Ishii Y, Tateda K, Yamaguchi K. In vitro activity of CS-023 (RO4908463) against various  $\beta$ -lactamase producing pathogens. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  13. Sato T, Tateda K, Ishii Y, Kimura S, Ohno A, Miyazaki S, Yamaguchi K. In vitro activity of S-013420, a novel bicyclicolide against clinical isolates in Japan including acrolide-resistant gram-positive cocci. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  14. Sato T, Tateda K, Ishii Y, Kimura S, Ohno A, Miyazaki S, Yamaguchi K. Bactericidal activity and persistent effect of S-013420, a novel bicyclicolide against *Legionella pneumophila* in epithelial cells and macrophages. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  15. Sato T, Tateda K, Ishii Y, Kimura S, Ohno A, Miyazaki S, Yamaguchi K. Bactericidal activity and persistent effect of S-013420, a novel bicyclicolide against *Haemophilus influenzae* in epithelial cell layers. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  16. Ishii Y, Sugihara K, Tateda K, Yamaguchi K. In vitro synergistic effects of combination of CP3242, as a novel metallo- $\beta$ -lactamase inhibitor, and carbapenems against carbapenemase producing organisms. 47<sup>rd</sup> ICAAC, Chicago, 2007. 9.17
  17. Kimura S, Tateda K, Ishii Y, Fuse E,

- Yamaguchi K: An evidence for sensing of quorum-sensing autoinducer molecules by intracellular organism *Legionella*. 46<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2006. 9.19
18. Sato T, Tateda K, Yamaguchi K: Different impact of steroid hormone on pulmonary growth of *Legionella pneumophila* and host responses in A/J and other strains of mice. 46<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2006. 9.19
19. Hayakawa K, Tateda K, Fuse ET, Matsumoto T, Yamaguchi K: Paradoxically high survival of NKT cell-deficient mice in *Legionella pneumophila* pneumonia. 46<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2006. 9.19
20. Ishii Y, Kimura S, Tateda K, Yamaguchi K: Prevalence of metallo-β-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacilli: results of the Japanese nationwide survey (2004). 46<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2006. 9.19
21. Sato T, Tateda K, Ishii Y, Kimura S, Ohno A, Miyazaki S, Yamaguchi K: Anti-*Legionella* activity of S-013420, a first-in-class bridged bicyclic macrolide. 46<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2006. 9.19
22. Matsumoto T, Goto M, Murakami H, Tanaka T, Nishiyama H, Ono E, Okada C, Sawabe E, Yagoshi M, Yoneyama A, Okuzumi K, Tateda K, Misawa N, Yamaguchi K: Multi-center study to evaluate blood stream infection with *Helicobacter cinaedi* in Japan. 46<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2006. 9.19

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

舘田 一博 (TATEDA KAZUHIRO)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：20236558

### (2) 研究分担者

石井 良和 (ISHII YOSHIKAZU)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：90246695

木村 聡一郎 (KIMURA SOICHIRO)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：60408870

宮入 伸一 (MIYAIRI SHINICHI)

日本大学・薬学部・教授

研究者番号：50209855

堀川 学 (HORIKAWA MANABU)

サントリー生物有機科学研究所・研究員

研究者番号：70270569

福島 淳 (FUKUSHIMA JUN)

秋田県立大学・生物資源科学部・准教授

研究者番号：00181256

後藤 直正 (GOTO NAOMASA)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：30121560

### (3) 連携研究者

なし