

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06616

研究課題名（和文）薬剤耐性因子を阻害する微生物由来の抗MRSA治療薬シーズの創製

研究課題名（英文）Discovery of microorganism-derived anti-MRSA therapeutic seed compounds that inhibit drug resistance factors

研究代表者

浅見 行弘（Asami, Yukihiro）

北里大学・感染制御科学府・教授

研究者番号：70391844

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、微生物培養液をスクリーニングし、MRSAにおける主要な耐性因子であるPBP2'を阻害する生物活性物質を探索する。昨年来からの微生物培養物からのスクリーニングにより活性物質としてtetronomycinを再発見し、MRSAをはじめとした強力な抗グラム陽性細菌に対する強力な抗菌活性を明らかにしてきた。加えてその新規誘導体であるtetronomycinを発見し、構造活性相関の一部を明らかにしてきた。また、共同研究者らとMEPM増強活性を示す化合物を糸状菌培養物から11つ単離・構造同定し、新規phomoidride Hを取得した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2050年にはAMRによる全世界での死亡者数が1,000万人以上になると予想されている。AMR対策に資する研究成果は、学術的意義や社会的意義が高いと考えられる。本研究課題はその問題解決の一つとして薬剤耐性因子を標的とした微生物創薬研究の基盤研究になると期待できる。今後も本研究課題を継続することで、新しい創薬シーズ化合物が取得できると期待している。

研究成果の概要（英文）：The bacteria resistant to beta-lactam antibiotics are an increasing concern. Remarkably, Gram-positive bacteria, which resist beta-lactam antibiotics commonly express PBP2', a protein to which these antibiotics cannot bind, thus evading their antimicrobial effects. This represents the main mechanism of resistance. Tackling this issue, it is believed that the use of PBP2' inhibitors potentially restores the efficacy of beta-lactam antibiotics. We have re-discovered tetronomycin from microbial cultures as an active agent with potent antibacterial activity against MRSA and other major anti-Gram-positive bacteria from the past year. Furthermore, we discovered a novel derivative of tetronomycin and started to elucidate its structure-activity relationship with each other. We further isolated and structurally identified 11 compounds from filamentous fungal cultures that exhibit activity-enhancing effects of MEPM and discovered a novel compound, phomoidride H.

研究分野：微生物創薬

キーワード：薬剤耐性因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

β -ラクタム系抗生物質は重要な抗細菌薬であるが、耐性を獲得した細菌が出現している。 β -ラクタム系抗生物質に耐性を示すグラム陽性細菌の MRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)は、主要な耐性機構として β -ラクタム系抗生物質が結合できない PBP2'(ペプチドグリカン合成する酵素の1つ)を発現させることで、 β -ラクタム系抗生物質の抗菌活性を回避する。そこで、PBP2'阻害剤を使用すれば、 β -ラクタム系抗生物質の有効性を復活させることができると考えられる。上記のような背景から、これまでに特異的な PBP2'阻害剤の開発研究が試みられてきたが、いまだ上市には至っていない。

2. 研究の目的

本研究では、微生物培養液をスクリーニングすることにより、MRSA の β -ラクタム系抗生物質の耐性因子の一つである PBP2'を阻害する生物活性物質を探索し、PBP2'産生菌感染動物モデルを用いて、 β -ラクタム系抗生物質との併用効果を検討することで、PBP2'産生菌(MRSA)感染症に治療効果を示す新規物質を創製することを目的とした。

3. 研究の方法

スクリーニングに用いる培養液は、さまざまな環境(土壌・植物・海洋など)から分離された珍しい微生物を培養したものとする。スクリーニングは、メロペナム含有培地と非含有培地を用いて、両培地における臨床分離 PBP2'産生 MRSA 株に対する阻止円径の差が大きなものを選択する。選択された培養液には PBP2'阻害物質が含まれることが期待されるため、再培養により大容量を得、そこから活性物質を精製し、活性物質の化学構造を各種機器分析により決定する。スクリーニングを継続していくとともに、単離された活性物質のリコンビナント PBP2'への競合阻害活性を *in vitro* で評価する。競合阻害活性は、penicillin G 蛍光物質と、クローニングして大腸菌に発現させた PBP2'を用いて定量する。続いて、他のペニシリン結合タンパク質群(主に PBP1, PBP2, PBP3, PBP4)への親和性も明らかにする。さらに、活性物質の全合成および誘導体合成を試み、高活性化物質を創製する。高活性化物質のうち、強力かつ特異的な結合能を示し、 β -ラクタム系抗生物質併用時に優れた抗菌スペクトルを示したものについて、生産菌の大量培養・精製により活性物質を十分量得て、それらを誘導体化してさらなる高活性化物質を取得する。動物実験において、これらの高活性化物質と β -ラクタム系抗生物質との併用が、臨床分離 PBP2'産生 MRSA 株感染に対する治療効果を示すかを検討する。高活性化物質が取得できなかった場合は、精製した活性物質で治療効果を同様に検討する。

4. 研究成果

本研究では、微生物培養液をスクリーニングし、MRSA における主要な耐性因子である PBP2'を阻害する生物活性物質を探索した。微生物培養物からのスクリーニングにより活性物質として tetronomycin を再発見し、MRSA をはじめとした強力な抗グラム陽性細菌に対する強力な抗菌活性を明らかにしてきた。加えてその新規誘導体である

tetronomycin を発見し、構造活性相関の一部を明らかにしてきた。また、共同研究者らと MEPM 増強活性を示す化合物を糸状菌培養物から 11 つ単離・構造同定し、新規 phomoidride H を取得した。成果として、査読付き国際誌に 4 つの論文を報告し、国内学会で 2 件発表した。本研究費による研究の実施により、本件研究課題が進捗し今後の科研費への申請課題を始めとした各種研究助成金への申請が促進できるようになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takahiro Ishii, Arisu Tahara, Kanako Taba, Masato Iwatsuki, Masako Honsho, Yukihiro Asami, Kenichi Nonaka, Hideaki Hanaki, Toshiaki Teruya	4. 巻 -
2. 論文標題 A new isomaneonene derivative from the red alga <i>Laurencia cf. mariannensis</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Asian Natural Products Research	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/10286020.2022.2130266	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Aoi Kimishima, Iori Tsuruoka, Hiroki Kanto, Hayama Tsutsumi, Naoaki Arima, Kazunari Sakai, Miho Sugamata, Hidehito Matsui, Yoshihiro Watanabe, Masato Iwatsuki, Masako Honsho, Kamrun Naher, Yuki Inahashi, Hideaki Hanaki, Yukihiro Asami	4. 巻 8
2. 論文標題 Rediscovery of tetronomycin as a broad-spectrum and potent antibiotic against drug-resistant Gram-positive bacteria	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 11556-11563
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.3c00651	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kimishima Aoi, Tsuruoka Iori, Tsutsumi Hayama, Honsho Masako, Honma Sota, Matsui Hidehito, Sugamata Miho, Wasuwanich Paul, Inahashi Yuki, Hanaki Hideaki, Asami Yukihiro	4. 巻 21
2. 論文標題 A new tetronomycin analog, broad spectrum and potent antibiotic against drug resistant Gram positive bacteria	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chemistry & Biodiversity	6. 最初と最後の頁 e202301834
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cbdv.202301834	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Honsho Masako, Kimishima Aoi, Ikeda Akari, Iwatsuki Masato, Nonaka Kenichi, Matsui Hidehito, Hanaki Hideaki, Asami Yukihiro, Sunazuka Toshiaki	4. 巻 77
2. 論文標題 The potentiation activity of β -lactam by phomoidrides and oxasetin against methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Antibiotics	6. 最初と最後の頁 185 ~ 188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41429-023-00691-2	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鶴岡伊織, 君嶋葵, 菅藤裕貴, 堤隼馬, 有馬直明, 酒井一成, 菅又美穂, 松井秀仁, 渡邊善洋, 岩月正人, 本庄雅子, Naher Kamrun, 本間颯太, 稲橋佑起, 花木秀明, 浅見行弘
2. 発表標題 抗薬剤耐性グラム陽性細菌物質テトロノマイシンの再発見とその作用機序解析
3. 学会等名 第65回 天然有機化合物討論会 2023年9月4日
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鶴岡伊織, 君嶋葵, 菅藤裕貴, 堤隼馬, 有馬直明, 酒井 一成, 菅又美穂, 松井秀仁, 渡邊善洋, 岩月正人, 本庄雅子, Naher Kamrun, 稲橋佑起, 花木秀明, 浅見行弘
2. 発表標題 薬剤耐性グラム陽性細菌に対する広域かつ強力な抗菌活性を示すテトロノマイシンの再発見
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会 2023年3月15日
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	君嶋 葵 (kimishima Aoi) (10832404)	北里大学・感染制御科学府・講師 (32607)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------