

ペプチド系抗生物質のアップグレード ～天然物の構造に基づく新規人工抗菌ペプチド群の戦略的創出～

1. 発表者：

井上 将行（東京大学大学院薬学系研究科薬科学専攻 教授）

伊藤 寛晃（東京大学大学院薬学系研究科薬科学専攻 助教）

2. 発表のポイント：

- ◆メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)にも有効なペプチド系抗生物質であるライソシン E よりも強力な抗菌活性を示す人工化合物群の創出に成功しました。
- ◆環状ペプチド系抗生物質であるライソシン E の化学合成法を応用し、樹脂ビーズ上で 2000 種類を超える人工化合物群を一挙に合成・スクリーニングする方法を確立しました。
- ◆新たに見出した高活性化合物群は、新規抗菌薬シーズとして有望です。また本成果は、その他の抗生物質への応用が可能です。

3. 発表概要：

東京大学大学院薬学系研究科の井上将行教授、伊藤寛晃助教らの研究グループは、環状ペプチド系抗生物質であるライソシン E よりも強力な抗菌活性を示す人工化合物群の創出に成功しました。

薬物耐性菌の蔓延は全世界的に重大な問題と位置付けられており、優れた活性を示す新規抗菌薬の創出が期待されています。生物由来の抗生物質(天然物、注 1)の改良は、新規抗菌薬を得る上で強力な方法である一方、わずかな構造改変により活性を著しく損なうことも多く、試行錯誤に長大な期間を要します。

本研究グループは、MRSA にも有効なライソシン E の固相合成法(注 2)と one-bead-one-compound (OBOC)ライブラリー(注 3)戦略の応用により、樹脂ビーズ上で 2000 種類を超える構造類縁体群を一挙に構築・スクリーニングする方法を確立し、強力な抗菌活性を示す新規化合物を複数見出すことに成功しました。本成果は、優れた性質を示す人工化合物を迅速に構築・発見する上で、天然物をもとにした OBOC ライブラリー戦略の有効性を示し、新規医薬品候補化合物の創出への応用が期待されます。

本研究成果は、英国科学誌「*Nature Communications*」(オンライン版)で 2019 年 7 月 5 日(日本時間午後 6 時)に公開されました。

4. 発表内容：

【研究の背景】

ライソシン E (図 1)は、*Lysobacter* 属細菌の培養上清から単離された環状ペプチド系抗生物質であり、黄色ブドウ球菌の感染マウスモデルを用いた治癒活性試験において、薬物耐性菌である MRSA 起因の感染症治療に用いられるバンコマイシンよりも顕著な治癒効果を示します。さらに、ライソシン E は、細菌細胞膜に存在し、電子伝達系(注 4)に必須の補酵素であるメナキノンとの複合体形成により、細胞膜を乱すことで抗菌活性を発現するという新しいメカニズムで抗菌活性を有します。ライソシン E と同様のメカニズムを有し、かつ低濃度で顕著な効果を示す化合物の創出は、新規医薬品としての応用も期待できるため、極めて重要です。

一方で、ライソシン E のような有望な活性を示す天然物を構造改変し、より優れた性質を持つ化合物を合理的に設計することは、一般的に非常に難しい課題です。なぜならば、天然物の持つ複雑な部分構造およびそれらの組み合わせの重要性を予測することは難しく、データの蓄積のため多数の構造類縁体を合成・評価する必要がありますが、これに長大な期間を要するためです。

【研究方法と結果】

本研究では、ライソシン E の固相合成法と OBOC ライブラリー戦略を応用することで、迅速かつ効率的な抗菌化合物類縁体の創出を目指しました。OBOC ライブラリーとは、ある構成単位からなる分子に関して、それぞれの構成単位がランダムに変化した類縁体が、ビーズに結合した状態の類縁体分子群を指します。OBOC ライブラリーでは、1 個のビーズが 1 種類の化合物に対応するため、合成後に空間的にビーズを分離することで、各化合物の性質を個別に評価することが可能です。本評価は未精製で実施するため、合成収率は化合物ごとのばらつきが少なく、かつ十分に高いことが求められます。これまで、通常のペプチドよりも複雑な構造を持ち、合成収率が低下しやすいライソシン E のような環状ペプチド系天然物に対して、OBOC ライブラリー戦略を適用した例はほとんどありませんでした。

まず、これまでに本研究グループにより確立されたライソシン E の固相合成法を応用し、第 3、6、9、11 残基を改変した 2401 種類からなる極めて微量(0.1–0.6 マイクログラム程度に相当)のライソシン E 類縁体群を約 7500 個のビーズ上で合成しました(図 1)。ここで、新たに構築した高感度な多段階評価系により、期待される性質を有する化合物のみを選出(スクリーニング)しました(図 2)。まず、ライソシンとメナキノンが複合体を形成する性質を利用し、ビーズ上のライソシン E 類縁体群に、メナキノン-4 の溶液を作用させました。結合したメナキノン-4 を溶出後、還元反応に付して蛍光性のメナヒドロキノン-4 とすることで、高感度に結合メナキノン量を決定することが可能になりました。ここで、上位のメナキノン結合量を示したビーズを選出することで、ライソシン E と同様のメナキノンとの結合能があることが期待される化合物を選択しました。続いて、これらのビーズに対して光照射することで、ペプチド-ビーズ間の光解離性リンカーを切断しました。遊離したペプチドを開環反応後に MS/MS 分析に付すことにより、166 化合物として構造決定を行いました。さらに、これらの化合物を黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性試験に付し、顕著な抗菌作用を示した 23 化合物を選定しました(図 3)。選定化合物を合成・精製し、機能評価したところ、11 の新規化合物 **A1–A11** (図 4)が天然物であるライソシン E と同等あるいはより強力な抗菌活性を示すことが分かりました。

【研究の意義と今後の展開】

今回見出された新規化合物群は、新たな抗菌薬シーズとして大変有用なものです。また、本成果は、自然選択の結果優れた性質を示すと考えられている天然物をもとにして、その性質を人工的にアップグレードした新規化合物を迅速に構築・発見することが可能であることを示します。OBOC ライブラリー戦略は、ライソシン E 以外のペプチド系天然物にも応用可能であり、様々な複雑構造生物活性ペプチドへと応用することで、新たな医薬品候補化合物の迅速な創出に役立てられることが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Nature Communications*」(2019年7月5日オンライン版)

論文タイトル：Development of a high-throughput strategy for discovery of potent analogues of antibiotic lysocin E

著者：Hiroaki Itoh[†], Kotaro Tokumoto[†], Takuya Kaji[†], Atmika Paudel, Suresh Panthee, Hiroshi Hamamoto, Kazuhisa Sekimizu, Masayuki Inoue*

(伊藤寛晃[†]、徳本皓太郎[†]、加治拓哉[†]、Atmika Paudel、Suresh Panthee、浜本洋、関水久、井上将行*)

([†]共同筆頭著者、*責任著者)

DOI 番号：10.1038/s41467-019-10754-4

アブストラクト URL：<http://www.nature.com/ncomms>

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院薬学系研究科 天然物合成化学教室

教授 井上 将行 (イノウエ マサユキ)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel: 03-5841-1354

E-mail: inoue@mol.f.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

注1 天然物

生物由来の有機化合物群の総称。生物活性を示すものも多く、天然物そのものあるいはその構造改変体は、医薬品として用いられる場合がある。抗生物質は、細菌等の微生物が他の微生物の繁殖を阻害するために産生する化合物の総称であり、天然物に分類される。

注2 固相合成

樹脂担体上で化合物を化学的に合成する手法のこと。反応の後処理がろ過のみであるため、迅速に目的の化合物を構築・供給することができる。

注3 one-bead-one-compound (OBOC)ライブラリー

特定の構成単位からなる分子に関して、それぞれの構成単位がランダムに変化した類縁体が、ビーズに結合した状態の類縁体分子群のこと。固相合成法を応用することで構築することができる。

注4 電子伝達系

電子の伝達により生体内の酸化還元反応を担う酵素および補酵素群のこと。

8. 添付資料：

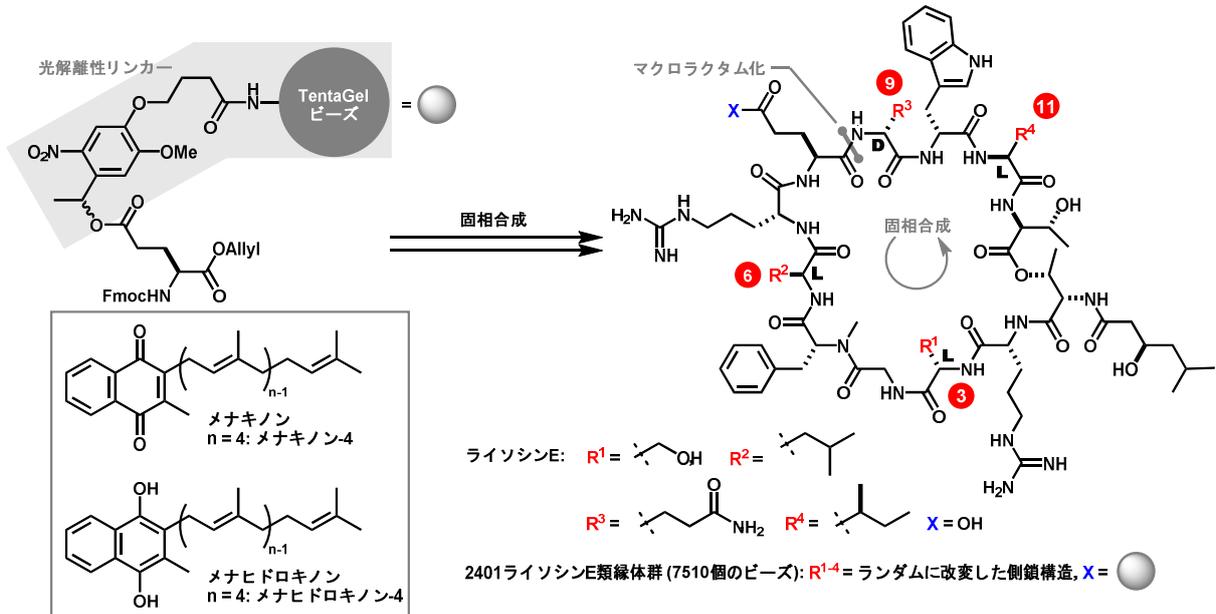


図1 ライソシンE、2401種類からなるライソシンE類縁体群、メナキノ-4、メナヒドロキノ-4の構造式

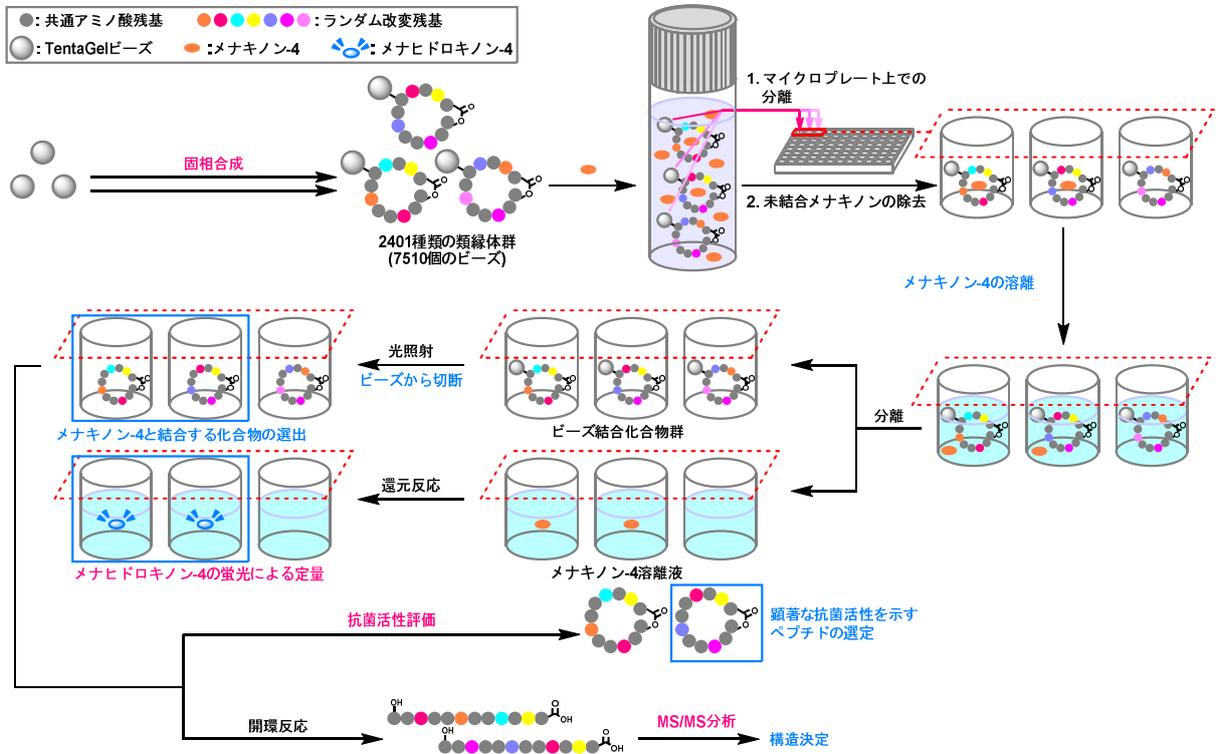


図2 スクリーニングの概要

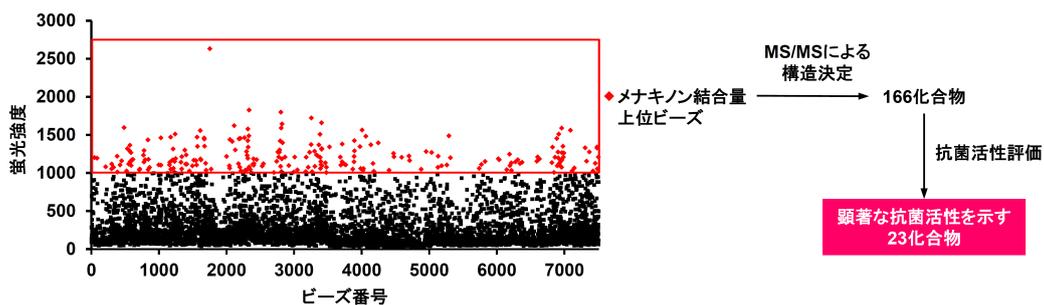


図3 ビーズのスクリーニング結果

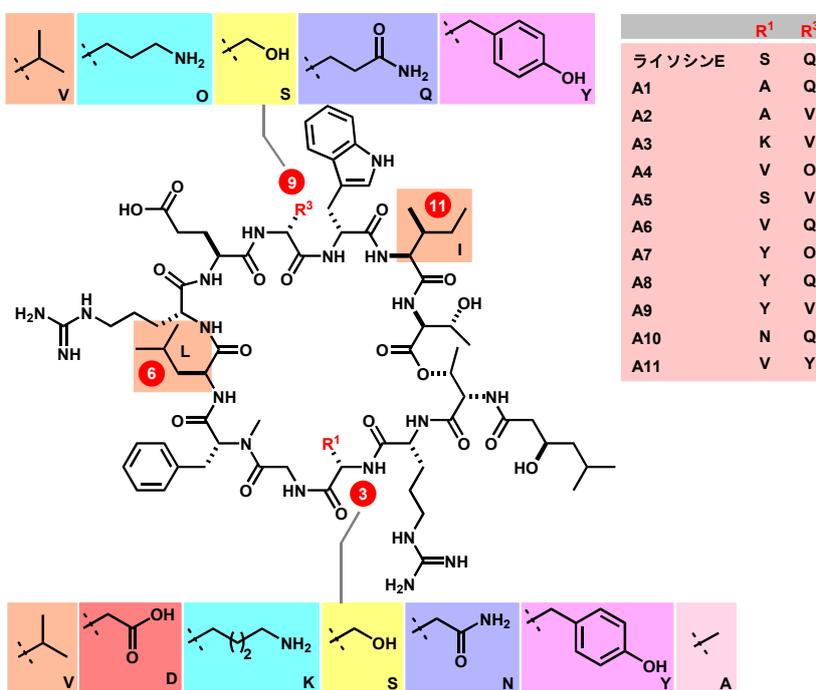


図4 ライソシンEと同等以上の抗菌活性を示した化合物A1-A11の構造