

抗生物質の副作用低減 ～数千種の類縁体群の網羅的合成・評価による生物活性の分離～

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：

- ◆古くから知られる抗生物質グラミシジンAの抗菌活性を保ちながら、副作用である溶血活性、哺乳細胞毒性を大幅に低減した人工化合物の創出に成功しました。
- ◆樹脂ビーズ上で4000種類を超えるグラミシジンA類縁人工化合物群を網羅的に固相合成し、イオン透過活性、細胞毒性、抗菌活性の3つの機能に基づく評価法を確立しました。
- ◆本研究で発見された低溶血活性・低細胞毒性化合物は、有用な新規抗菌薬シーズです。また、本成果は医薬品資源としての天然物の可能性を拡大するものです。

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、抗生物質グラミシジンAの抗菌活性(注1)を保ちながら、望ましくない溶血活性(注2)、哺乳細胞毒性を大幅に低減した人工化合物の創出に成功しました。

薬物耐性菌起因の感染症は全世界的に重大な問題であり、新規抗菌薬の開発は創薬上喫緊の課題です。生物由来の抗生物質(天然物、注3)は抗菌薬の基盤構造として優れている一方、望ましくない作用を持つこともあります。例えば、土壌細菌が産生する抗生物質であるグラミシジンAは強力な抗菌活性を持ちますが、顕著な溶血活性と哺乳細胞毒性などの副作用を示すため、抗菌薬としての適用は著しく限られています。本分子の適用範囲の拡大のためには構造改変が欠かせませんが、抗菌活性を保ちながら望ましくない作用を低減する構造改変は一般的に容易ではありません。

本研究グループは、グラミシジンAの固相合成(注4)とone-bead-one-compound (OBOC)ライブラリー(注5)戦略の応用により、樹脂ビーズ上で4000種類を超える構造類縁体群を網羅的に構築・評価し、抗菌活性を保持しながら大幅に溶血活性、哺乳細胞毒性を低減した人工化合物を見出すことに成功しました。本成果は、発見からおよそ80年経つグラミシジンAに対して、これまで困難とされてきた特定の生物種にのみ作用する性質(生物種選択性)を付与できることを示し、天然物の抗菌薬、ひいては医薬品資源としての可能性をさらに拡大するものです。

本研究成果は、英国科学誌「*Nature Communications*」で2020年10月1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】

グラミシジンA(図1a)は、土壌細菌 *Bacillus brevis* が生産するペプチド系抗生物質です。グラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を示す一方で、顕著な溶血活性と哺乳細胞毒性を示すことから、医薬品としての適用は著しく限られてきました。グラミシジンAは、脂質二重膜でイオンの通り道となるイオンチャネル(図1b)を形成することで、さまざまな生物活性を示します。

脂質二重膜はどの生物種の細胞にも存在するため、グラミシジン A のような機構で生物活性を示す化合物に生物種選択性を付与するのは困難であると予想されてきました。

【研究方法と結果】

本研究では、OBOC ライブラリー戦略により、グラミシジン A の多様な生物活性を分離することを目指しました。OBOC ライブラリーとは、ビーズに結合した状態の類縁体分子群のことで、1 個のビーズが 1 種類の化合物に対応します。各ビーズ由来の化合物を評価することで、わずかな構造差異の機能への影響を明らかにし、有用な類縁体を迅速に見出すことが可能です。

まず、split-and-mix 法に基づく固相合成により、第 4、6、8、10、12、14 残基を改変した 4096 種類のグラミシジン A 類縁体群を約 14000 個の直径 0.3 mm のビーズ上で構築しました(図 2)。続いて、ビーズを切断した化合物のイオン透過活性、マウス由来細胞系列に対する毒性試験、溶連菌に対する抗菌活性を評価し、強力なイオン透過活性を示す類縁体のうち、顕著な哺乳細胞毒性を示す A 群と哺乳細胞毒性が減弱した B 群について MS/MS 解析により構造決定しました。このうち、構造と抗菌活性を考慮して選定した 10 種類の化合物(図 3、**A1**、**B₀1–B₀4**、**B₁1–B₁3**、**B₂1**、**B₂2**)について、抗菌スペクトル、哺乳細胞毒性、溶血活性を評価したところ、肺炎球菌、溶連菌等に対して天然物であるグラミシジン A と同等の抗菌活性を示しながら、細胞毒性、溶血活性が大幅に低減した新規化合物 **B₁2** を見出すことに成功しました。

【研究の意義と今後の展開】

今回の発見は、顕著な溶血活性・哺乳細胞毒性のために局所使用のみ可能であったグラミシジン A のさらなる応用可能性を示唆し、特に **B₁2** は新規抗菌薬シーズとして有用です。また、一般的には生物種選択性の付与が困難であると考えられてきたイオンチャネル形成化合物に関して、構造改変により優れた細菌に対する選択性を示す類縁体を迅速に創出可能であることを示しました。本研究により、OBOC ライブラリー戦略により多様な天然物の作用を迅速かつ効果的に分離可能であることが実証され、この概念が天然物の医薬品資源としての可能性をさらに高め、新たな医薬品候補化合物の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*」(2020 年 10 月 1 日)

論文タイトル：Discovery of gramicidin A analogues with altered activities by multidimensional screening of a one-bead-one-compound library

著者：Yuri Takada, Hiroaki Itoh, Atmika Paudel, Suresh Panthee, Hiroshi Hamamoto, Kazuhisa Sekimizu, Masayuki Inoue*

(高田悠里、伊藤寛晃、Atmika Paudel、Suresh Panthee、浜本洋、関水和久、井上将行*)

DOI 番号：10.1038/s41467-020-18711-2

アブストラクト URL：<https://www.nature.com/articles/s41467-020-18711-2>

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 抗菌活性

ある化合物の、細菌を死滅させたり、活動・増殖を抑制したりする性質のこと。

注2 溶血活性

ある化合物の、赤血球の膜に損傷を与え、内容物を漏出させる性質のこと。

注3 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、天然物に分類される。

注4 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5 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、各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。

8. 添付資料：

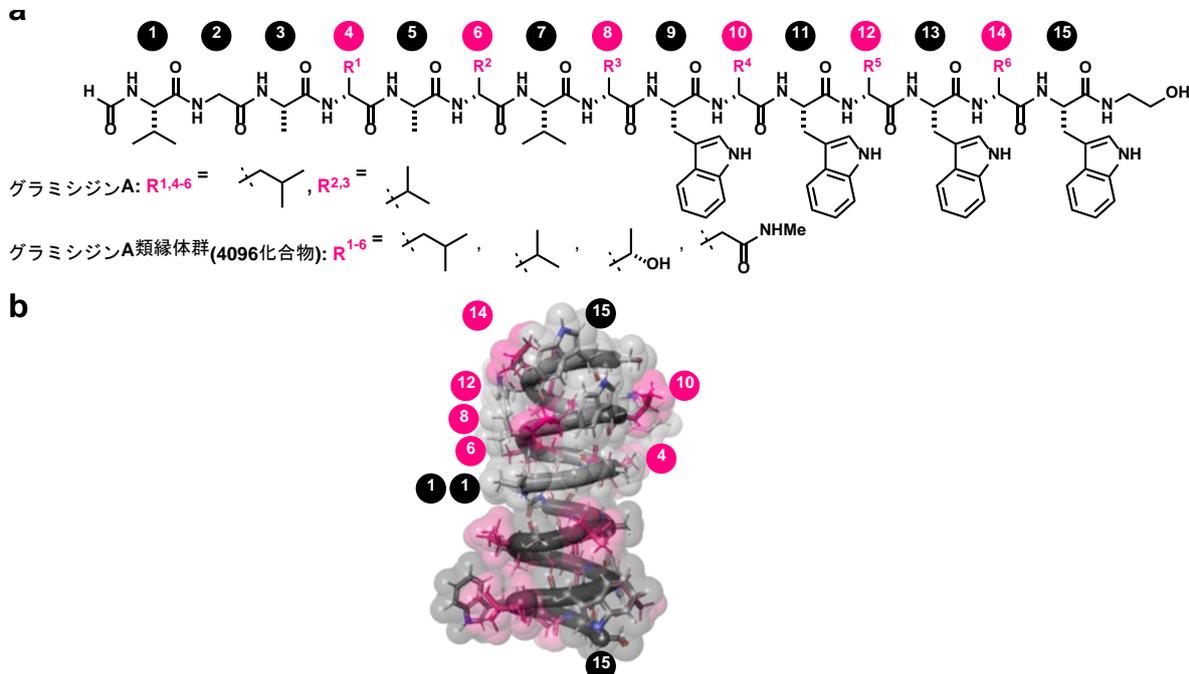


図1 (a)グラミシジンAおよびグラミシジンA類縁体群(4096種類)の構造式
(b) グラミシジンAの形成するイオンチャンネル

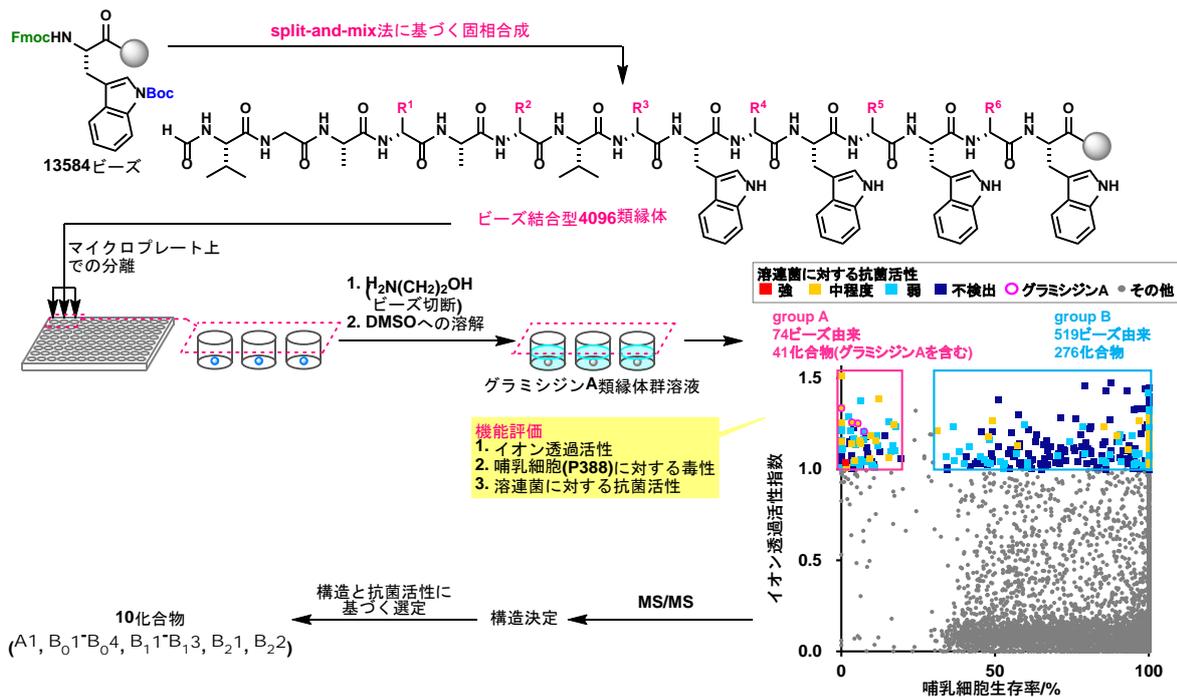


図2 4096種類の類縁体群構築と候補化合物選出の概要

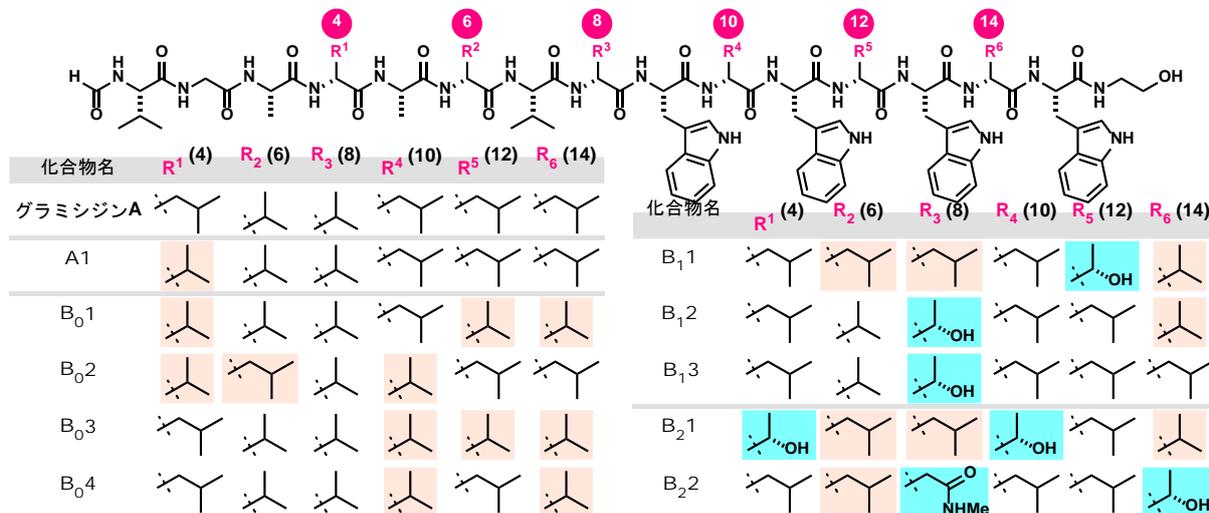


図3 化合物A1、B₀1-B₀4、B₁1-B₁3、B₂1、B₂2の構造式