

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		グラム陰性細菌の外膜不安定化変異株の詳細解析と外膜不安定化剤開発への展開			
研究テーマ (欧文) AZ		Characterization of the outer membrane permeabilizing mutations in Gram-negative bacteria as research targets for combatting multidrug resistance.			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) コジマ	名) セイジ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	児島	征司	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Kojima	Seiji	研究機関名	東北大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東北大学学際科学フロンティア研究所・助教			
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>グラム陰性細菌の外膜は、様々な生育阻害物質の細胞内流入を阻害するため、薬剤耐性に寄与して医療現場で深刻な問題を引き起こす。本研究では、外膜での薬剤流入制限を解消することでグラム陰性細菌を薬剤超感受性化させる戦略の実現に挑戦した。研究対象としてはグラム陰性細菌モデルである大腸菌を用いた。第一段階として私は、グラム陰性細菌に広く保存され外膜の安定的維持に必須の Tol-Pal 複合体を欠損すると顕著な外膜不安定化現象が起こり、外膜透過性が野生株と比べて約 4 倍上昇して多様な薬剤に対し超感受性化することを明らかにした。この事実から、外膜不安定化を誘発させる物質を得ることができれば、当該物質の投与下で薬剤流入制限が解消されることが期待された。特に「Tol-Pal 複合体の機能阻害」により既存の薬剤の多剤耐性菌への効果が回復することが見込まれ、グラム陰性細菌の薬剤耐性問題解決への突破口が示された。第二段階として、Tol-Pal 複合体の機能阻害をターゲットとした、グラム陰性細菌の外膜を不安定化し高透過性化する物質の取得を目指した化合物スクリーニング法を考案した。創薬機構が保有する 9,600 化合物を使用し、化合物スクリーニングを実施した結果、外膜を著しく高透過性化する性質を持つ2つの新奇化合物を得た。当該化合物の存在下で大腸菌の外膜不安定化現象が誘発されており、薬剤耐性が著しく低下していた。一方、外膜を持たないグラム陽性細菌に対しては効果を示さなかった。これらの成果は、グラム陰性細菌の薬剤耐性問題解決に向けて「外膜不安定化の誘発」という新しいアプローチを提示し、かつそのアプローチが実現可能であることを明確に示すものとなった。</p>					
キーワード FA	グラム陰性細菌	薬剤耐性	外膜	Tol-Pal	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Quantitative measurement of the outer membrane permeability in <i>Escherichia coli</i> lpp and tol-pal mutants defines the significance of Tol-Pal function for maintaining drug resistance.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kowata H, Tochigi S, Kusano T, & Kojima S	雑誌名 <sup>GC</sup>	Journal of Antibiotics					
	ページ <sup>GF</sup>	863~870	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	6	巻号 <sup>GD</sup>	69
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	グラム陰性細菌の多剤耐性—beta-lactam系抗生物質の外膜透過・排出速度の測定結果を例に理解する—							
	著者名 <sup>GA</sup>	児島 征司	雑誌名 <sup>GC</sup>	化学と生物					
	ページ <sup>GF</sup>	80~82	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	6	巻号 <sup>GD</sup>	54
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Multi-drug resistance of Gram-negative bacteria is one of the major concerns in the clinical setting of this century. The outer membrane permeability barrier prevents the entry of drugs into the cell, contributing significantly to the multi-drug resistance of Gram-negative bacteria. This study aimed to establish a strategy to permeabilize the outer membrane and thereby combat multi-drug resistance. First, I found that the loss of function of Tol-Pal complex of *Escherichia coli*, which is widely conserved among Gram-negative bacteria and is involved in the maintenance of envelope integrity, caused destabilization of the outer membrane resulting in ca. 4-fold increase of the permeability. The *tol-pal* deletion mutant showed hypersusceptibility to multiple drugs. These observations highlighted the importance of Tol-Pal complex as a promising target to combat multidrug-resistant Gram-negative bacteria. Second, I developed the chemical screening method for finding compound(s) that destabilizes the outer membrane. I performed the chemical screening using 9,600 compounds provided by Drug Discovery Initiative, Japan, and found two compounds that markedly destabilize the outer membrane. In the presence of these compounds, the *E. coli* outer membrane was permeabilized by ca. 2- to 4-fold, and *E. coli* showed increased susceptibility to multiple drugs. In summary, this study represents a successful example of reducing the drug resistance level by the compounds that destabilize the outer membrane, providing the promising approach to combat multi-drug resistant Gram-negative bacteria.