

新規標的と機序で作用する対グラム陰性細菌抗生物質の開発

プロジェクト
責任者

鳥取大学学術研究院 工学系部門

教授 溝端 知宏

プロジェクト概要

1. 抗生物質は医療現場で感染症を戦う必要不可欠の道具であり、現代社会の発展は抗生物質の発見と利用に負うところが多い。一方、病原菌は抗生物質に対する耐性を出現させてこれに対抗しており、現在では複数の製剤に対する耐性を示す「多剤耐性病原菌」の台頭が大きな問題となっている。既存の抗生物質を改良してもすぐさま耐性が出現するため、全く新しい標的やユニークな作用機序で働く「真に画期的な抗生物質」のニーズは高い。ところが、世界中で開発中の新規抗生物質、とりわけ**グラム陰性細菌**に効果的な抗生物質の開発は充分とは言えない(右)。

多剤耐性病原菌の出現

"WHO PRIORITY PATHOGENS LIST FOR R&D OF NEW ANTIBIOTICS (2017)"

Critical

Acinetobacter baumannii
Pseudomonas aeruginosa
Enterobacteriaceae

多剤耐性病原菌、とりわけグラム陰性細菌の細菌の出現が著しく【真に画期的な新型抗生物質】の開発ニーズが極めて高い

High

Enterococcus faecium
Staphylococcus aureus
Helicobacter pylori
Campylobacter
Salmonella spp.
Neisseria gonorrhoeae

Medium

Streptococcus pneumoniae
Haemophilus influenzae
Shigella spp.

Highlight:
Gram-negative Bacteria

WHOによれば真に画期的な標的・機序を持つ開発中の抗生物質は2020年現在で7種、そのうちグラム陰性細菌を対象とするものは**わずか2種**

分子シャペロンを標的とした新規抗生物質の開発：本研究の着想

大腸菌を【低pH(酸)】から保護する分子シャペロンHdeAとHdeBは【変性構造】を使い大腸菌の蛋白質を守る(上)

pH 7ではHdeA,B共に【不活性】

pH低下! 変性したHdeA,HdeB

分子シャペロン(活性)
変性したHdeA,HdeB
アミロイド線維(不活性)

変性構造は水中で不安定であり、簡単に【沈殿】(アミロイド線維)を作り活性を失う(下) → 本研究の基盤となる発見

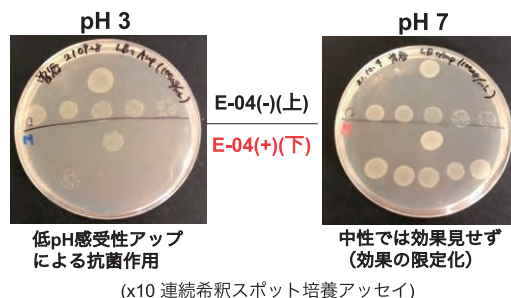
HdeAとHdeBの**線維化を促す薬剤**は大腸菌を酸に対し敏感に → **【分子シャペロン】の【線維化】を促す新型抗生物質**

2. HdeAとHdeBは病原性大腸菌を胃の強い酸性から守る分子シャペロンである。菌の生育に大切な蛋白質を酸から保護するHdeAとHdeBは「変性構造」という不安定な構造を用いて働く変わった特徴を持つ。

我々はHdeAとHdeBが蛋白質の保護に用いる変性構造を「アミロイド線維」という沈殿に誘導して失活させることができる事を発見した(左)。大腸菌を酸から保護するHdeAとHdeBを「**線維化**」させて**失活させれば**大腸菌は胃の中で酸に敏感になり死滅するという発想のもと、HdeAとHdeBの線維化を促す低分子化合物を検索した。

3. 低分子化合物ライブラリーからHdeAの線維化を促す化合物を選抜したところ、その中のある候補(E-04, 右)がpH 3における大腸菌の生育を強く抑制した。興味深いことにE-04はpH 7では大腸菌の生育を抑制する事ができず、「HdeAの力が菌の生育に必要な環境に限り」抗菌効果を発揮した。

本研究で想定している「**HdeAを失活させて大腸菌の酸耐性を下げる**」作用機序をこの結果が裏付けると捉え、現在はE-04を中心とした詳細な評価、ならびにE-04の能力強化に向けた検討を進めている。



候補E-04はHdeAの保護が必要な「低pH」でのみ抗菌作用を見せる

対象疾患: 腸管出血性大腸菌感染症

特許情報: 特許出願準備中

技術の特徴: 新規の作用機序で既存の抗生剤とは異なる標的に作用する、グラム陰性細菌対象の抗菌薬市場性、開発における課題: 臨床試験や構造最適化などに積極的な共同開発パートナーの探索。

Development of a novel antibacterial that targets a molecular chaperone

Principal Investigator

Faculty of Engineering, Tottori University

Professor Tomohiro MIZOBATA

Project Outline

1. Antibiotics are an important and necessary tool in the fight against bacterial infections, and the discovery and development of potent antibiotics have contributed greatly to the quality of life in modern society. Antibiotic resistance, and especially the accelerating emergence of bacterial strains that are immune to multiple antibiotics, threatens our society. However, present efforts to develop a novel, truly innovative antibiotic, in particular an antibiotic that targets Gram-negative bacteria, fall short of the level needed to combat this problem (Right).

The Emergence of Multi-Drug Resistant Bacteria

"WHO PRIORITY PATHOGENS LIST FOR R&D OF NEW ANTIBIOTICS (2017)"

Critical *Acinetobacter baumannii*
Pseudomonas aeruginosa
Enterobacteriaceae

High *Enterococcus faecium*
Staphylococcus aureus
Helicobacter pylori
Campylobacter
Salmonella spp.
Neisseria gonorrhoeae

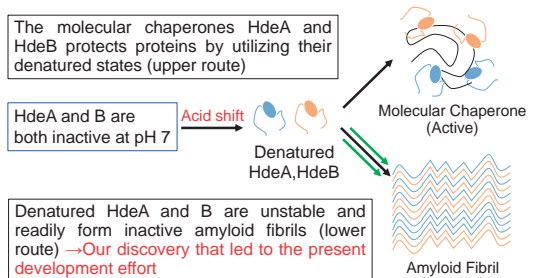
Medium *Streptococcus pneumoniae*
Haemophilus influenzae
Shigella spp.

Highlight: Gram-negative Bacteria

The emergence of multi-drug resistant Gram-negative bacteria, highlights the need for the development of novel, truly innovative antibiotics

As of 2020, only seven truly innovative, novel antibacterials are under development, and only two of these target Gram-negative species (WHO)

Concept: The search for a novel antibacterial that targets a molecular chaperone



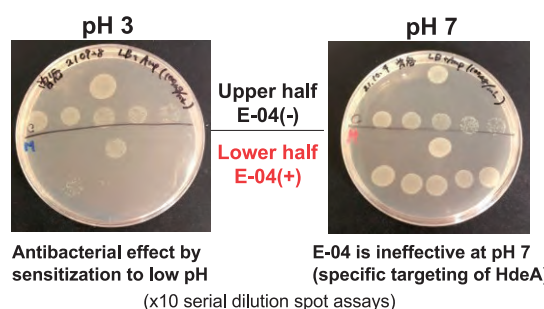
Compounds that promote HdeA/B fibril formation will render bacteria sensitive to acidic conditions
→ The search for a novel antibacterial that targets molecular chaperones by promoting their fibrillation

2. The *E. coli* molecular chaperones HdeA and HdeB protect the bacterium from strongly acidic conditions by binding to and stabilizing protein clients from irreversible denaturation and inactivation. Paradoxically, HdeA and HdeB achieves this by utilizing their own acid-denatured structures to recognize and bind clients. We discovered that in this denatured state, both chaperones readily form insoluble fibrils that lead to inactivation (Left).

The present developmental effort searches for compounds that promote this fibrillation and lead to inactivation of HdeA and HdeB, which would render *E. coli* sensitive to acidic conditions.

3. A preliminary search led to the identification of a candidate compound (compound E-04, Right) that promoted the fibrillation of HdeA. Interestingly, E-04 sensitized model *E. coli* cells to transient acid treatment. Curiously, adding E-04 to normal (pH 7) cultures resulted in negligible effect.

Interpreting this result as a proof that validates our concept of using HdeA as target and promotion of fibrillation as mechanism of action of a novel antibacterial, we are presently trying to improve on the initial E-04 candidate for antibacterial potency.



Target: Enterohemorrhagic Escherichia coli ; EHEC

Patent submission process: In preparation

Novelty of technology: An eventual development of a novel antibacterial that acts on molecular chaperones as unique target and inactivation through fibrillation as unique mechanism of action

Factors to accelerate development: Finding suitable partners to test candidate compounds in a clinical setting