

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	薬剤排出ポンプによる細菌多剤耐性化・病原性発現制御機構の解明と新規治療法開発
研究機関・部局・職名	大阪大学・産業科学研究所・准教授
氏名	西野 邦彦

【研究目的】

現在、臨床現場において様々な多剤耐性菌が出現し、耐性菌感染症は医療従事者が直面する重要な問題である。薬剤排出ポンプは生体異物や複数の抗菌薬を細胞外へ排出することにより細菌に多剤耐性をもたらす。これまでに、細菌において薬物・毒物を排出する数十個もの薬剤排出ポンプを同定した。しかし、その大部分は通常の条件下では発現していない。菌の生育段階や、環境感知応答システム等の多彩な制御性の働きによって排出ポンプの発現が誘導されてくることを明らかにしてきた。さらには、サルモネラが実際に宿主の中で毒性を発揮するためにも薬剤排出ポンプの存在が必須であることも見出した。薬剤排出ポンプの生理機能を理解することが大切な課題になってきた。また、細菌にも情報伝達のシステムが存在することが明らかになってきたが、それら情報伝達と排出系の関係についてはほとんど分かっていない。そこで本研究では、多剤耐性化における薬剤排出ポンプと制御ネットワークの役割について解析を行うとともに、メタボローム解析等の手法により、薬剤排出ポンプの生理的基質を同定し、病原性や毒性との関連について調べる。また、微細加工技術を駆使して、細菌多剤排出活性を簡便に迅速に測定することのできるデバイスを開発し、薬剤排出ポンプ阻害剤の評価を行う。本計画では、薬剤排出ポンプ阻害剤が細菌多剤耐性化と病原性の両方を克服する効果があるかどうかを検証する。よい阻害剤を見つけることができれば、細菌の多剤耐性化を克服しながら、病原性を軽減させることのできる全く新しい治療法開発に役立つ。

【総合評価】

○	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

研究代表者は目的とした研究全般を順調に進捗させ非常に優れた研究成果を残し

た。

薬剤排出ポンプのフェノーム解析から、抗生物質以外の多くの化合物をポンプが輸送していることを見いだした。また、トランスクリプトーム解析から、腸内細菌や宿主が産出する化合物 (small RNA を含む) により薬剤排出ポンプが誘導される新規な抗菌薬抵抗性機構を発見した。さらに、創薬標的を複数同定した。薬剤排出ポンプと細菌のリボース代謝との関係や宿主免疫回避との関係も明らかにした。薬剤排出活性測定や多剤耐性緑膿菌の抗菌感受性のための新規デバイスの開発に成功し、臨床で役立つ細菌-細胞の抗菌排出活性測定法のキット化を複数の病院と共同研究している。排出ポンプの阻害候補化合物を特定するとともに、それらが細菌の多剤耐性化と病原性発現の両者を軽減する効果があることを証明した。さらに、これら阻害剤の緑膿菌薬剤排出ポンプ活性阻害の分子機構を構造的に解明するとともに、抗菌薬抵抗性抑制解除機構を世界に先駆けて明らかにした。これらの研究成果を雑誌論文 (28 編、*Nature*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *Front Microbiol.*, *Nature Commun.* などを含む) に公表した。

② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

阻害剤と薬剤排出ポンプとの共結晶構造解析によって、薬剤排出ポンプ制御とその阻害機構を明らかにし、また、多剤耐性菌の早期検出のためのデバイスの開発にも成功しており、当初の目標を十分達成した。

③ 研究の成果

・ これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が

(ある ・ ない)

・ ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が

(創出された ・ 創出されなかった)

・ 当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

網羅的研究からは、排出ポンプが抗生物質のみならず多様な分子を排出することを発見し、腸内細菌や宿主が産生する物質により排出ポンプが誘導される新規な抗菌薬抵抗性機構を明らかにした。構造生物学的な業績については、分子メカニズムの解明で世界をリードする優位性を持っている。また、特許出願に至ったデバイスの開発が本研究計画でのブレークスルーになると考えられる。さらに、構造生物学的な研究成果として、大腸菌薬剤排出ポンプ AcrB の多剤認識機能 (*Nature* 2011)、AcrB および MexB とポンプ阻害剤の結合認識機構 (*Nature* 2013)、薬剤排出ポンプ遺伝子の制御因子 RamR の抗菌薬結合機構 (*Nature Communications* 2013) といった優れた業績を挙げた。

一方、環境シグナルによって細菌の多剤耐性化が引き起こされることを発見したことは、当初の目的の他に得られた成果である。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

細菌の多剤耐性化あるいは病原性発現の制御、というこれまでにない発想で感染症に立ち向かおうとする研究であり、将来にわたって感染症の制圧に貢献できる。測定デバイスについては、マイクロ流路を用いることで、15分程の短時間に高感度で細菌の抗菌薬排出活性を測定することに成功し、そのマイクロ流路を用いた抗菌薬排出活性測定系をさらに発展させ、院内感染で問題となっている多剤耐性緑膿菌の抗菌薬感受性を3時間で測定することのできるデバイスを開発した。また、マイクロドロップレット型超微小溶液チャンバーを用いることにより、15分で細菌一細胞の抗菌薬排出活性を測定できる方法を開発し、新しい細菌薬剤感受性キット開発につなげるために、複数の病院検査室と共同研究を進めている。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究開発マネジメントは適切に行われており、レベルの高い雑誌への論文発表や特許出願など、十分な研究成果が認められる。さらに、所属機関と連携して、効果的な研究成果の発信に十分取り組んでいる。国民との科学・技術対話の取り組みも十分になされた。