

細菌型チロシンキナーゼ阻害物質の探索研究

申請代表者 深澤 秀輔

国立感染症研究所・真菌部

室長

■背景・目的

近年抗生物質の濫用によりほとんどの薬剤が効かない多剤耐性菌が出現、高齢化や医療の高度化による易感染者の増加もあり、大きな問題となっている。新しい抗菌薬、感染制御薬が強く求められているが、ほとんどは既存薬の改良であり、耐性菌対策は手詰まりの感がある。一般的にはあまり知られていないが、細菌にもチロシンキナーゼが存在する。細菌のチロシンキナーゼの機能は多岐にわたり、未だ明らかではないことも多いが、一部は多糖類の生合成、輸送に関与している。現在までの報告から、細菌のチロシンキナーゼを阻害すると、病原性の低下、薬剤感受性の増強、バイオフィルム形成の阻害等が予想されることから、我々は細菌型チロシンキナーゼが新しい薬剤標的となる可能性があると考えている。細菌のチロシンキナーゼは、真核生物のものとは類似性はなく、構造が全く異なるため、その阻害剤は細菌のみに作用する選択性が期待できる。しかし活性の検出方法、評価系がまだ確立されておらず、細菌型チロシンキナーゼの阻害物質はまだ知られていない。我々は細菌型チロシンキナーゼ阻害物質評価系の構築に成功したので、その系を用いてスクリーニングを行うこととした。活性物質が得られれば、その作用を解析し、細菌のチロシンキナーゼの阻害剤が新規作用機序を持つ抗菌薬となり得るかを調べる。

■結果・考察

黄色ブドウ球菌のチロシンキナーゼの触媒サブユニット、およびその調節サブユニットをクローニングし、触媒サブユニットのN末に、調節サブユニットのC末細胞質キナーゼ活性化領域を融合させ、更に蛍光タンパクタグをN末に付加した。これをHEK293T細胞に一過性に発現させると、リン酸化チロシンのシグナルが検出された。そこでcell-based ELISAの系を確立し、阻害剤の探索を行った。生薬由来化合物96種、生薬エキス120種及び漢方方剤42種のセットを用いてスクリーニングを行い、どのような化合物が活性を示すかを調べた。残念ながら、上記生薬由来化合物、生薬エキス、漢方方剤の中には、顕著な黄色ブドウ球菌チロシンキナーゼ阻害活性を示すものはなかった。

■結論

細菌型チロシンキナーゼのcell-based ELISAの系を確立し、阻害剤の探索を行った。提供された生薬由来化合物、生薬エキス、漢方方剤からは、細菌型チロシンキナーゼを強く阻害するものは見いだせなかった。