病原細菌に対する新しい薬剤標的—二成分情報伝達システム

内海龍太郎,^{*,a} 五十嵐雅之^b

Two-component Signal Transduction as Attractive Drug Targets in Pathogenic Bacteria

Ryutaro Utsumi^{*,a} and Masayuki Igarashi^b

^aDepartment of Bioscience, Graduate School of Agriculture, Kinki University; 3327-204 Nakamachi, Nara 631-8505, Japan; and ^bInstitute of Microbial Chemistry; 3-14-23 Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021, Japan.

(Received August 30, 2011)

Gene clusters contributing to processes such as cell growth and pathogenicity are often controlled by two-component signal transduction systems (TCSs). TCS consists of a histidine kinase (HK) and a response regulator (RR). TCSs are attractive as drug targets for antimicrobials because many HK and RR genes are coded on the bacterial genome though few are found in lower eukaryotes. The HK/RR signal transduction system is distinct from serine/threonine and tyrosine phosphorylation in higher eukaryotes. Specific inhibitors against TCS systems work differently from conventional antibiotics, and developing them into new drugs that are effective against various drug-resistant bacteria may be possible. Furthermore, inhibitors of TCSs that control virulence factors may reduce virulence without killing the pathogenic bacteria. Previous TCS inhibitors targeting the kinase domain of the histidine kinase sensor suffered from poor selectivity. Recent TCS inhibitors, however, target the sensory domains of the sensors blocking the quorum sensing system, or target the essential response regulator. These new targets are introduced, together with several specific TCSs that have the potential to serve as effective drug targets.

Key words—two-component signal transduction system; antibacterial drug; antivirulent drug

1. はじめに

微生物は地球上で最も環境に適応して変化する生物である。特に細菌は、氷河や海底の熱水噴出口のような動物や植物が生き残ることができないような環境でもみることができる。それらは地球上に出現して以来、環境変化に適応するための機能を進化させてきた。中でも、その様々な環境変化に適切に対応するため、二成分情報伝達システム (TCS) というヒトを含む哺乳類には存在しないシステムを進化させた。典型的な TCS は、環境シグナルに応答して自己リン酸化するセンサーキナーゼ (ヒスチジンキナーゼ, HK) とリン酸化された HK と相互作用するレスポンスレギュレーター (RR) から構成されている。保存されたヒスチジン残基がリン酸化さ

れた HK は、RR のアスパラギン酸残基へとリン酸基を転移させる。リン酸化された RR は制御下遺伝子の発現を調節する。また、リン酸化された RR は HK によって脱リン酸化されることもある。細胞中の RR のリン酸化状態は、リン酸化と脱リン酸化のバランスによって決定し、またその状態により遺伝子発現を制御している [Figs. 1(a) and (b)].¹⁾

様々な異なる環境変化に適応するため、細菌は複数の TCS を有している。それぞれの TCS が pH、栄養状態、酸化還元、浸透圧、クオラムシグナルや抗生物質のような特定の環境シグナルに応答する。またさらに、より多くの環境変化により敏感に応答するため、情報は複雑な情報伝達ネットワーク間のクロストークによって他の TCS にも伝えられる。^{2,3)} いくつかの TCS は細胞増殖、病原性、バイオフィーム、クオラムセンシングなどに係わる遺伝子クラスターを制御している。従来の抗生物質は必須な機能を担うタンパク質を直接標的としている。⁴⁾ 一方、TCS はそのような機能を担うタンパク

^a近畿大学大学院農学研究科バイオサイエンス専攻 (〒631-8505 奈良市中町 3327-204), ^b(公財)微生物化学研究会微生物化学研究所 (〒141-0021 東京都品川区上大崎 3-14-23)

*e-mail: utsumi@nara.kindai.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 131 年会シンポジウム S05 で発表したものを中心に記述したものである。

Fig. 1. Two-component Signal Transduction as Potential Drug Targets in Pathogenic Bacteria

(A) Inhibitors targeting the essential TCS, WalK/WalR. Walkmycin B inhibits autophosphorylation of WalK. Walrycin B inhibits phosphotransfer from WalK. (B) QseC/QseB TCS and its inhibitor. AI-3; auto-inducer 3, Epi: epinephrine, NE: norepinephrine LED209 (N-phenyl-4-[(phenylamino)thioxomethyl]amino]-benzenesulfonamide) blocks QseC autophosphorylation by inhibiting the binding of AI-3, Epi and NE.

質の遺伝子発現を制御しているので、その TCS 阻害剤は既存の抗生物質とは異なり、様々な薬剤耐性菌に対しても効果のある新しい抗生物質、農業へ発展する可能性がある。増殖に必要な遺伝子発現を制御する TCS を標的とする薬剤は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) やバンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE) のような多剤耐性菌に対しても抗菌性を示す [Fig. 1(a)].⁵⁻⁸⁾ 一方、バイオフィーム形成やクオラムセンシングのような病原性を調節する TCS の阻害剤は、病原菌を殺すことなく病原性遺伝子の発現を制御し、病原性を抑制することが可能である [Fig. 1(b)].⁹⁻¹¹⁾ 本総説では最初に細菌の細胞増殖に必要な遺伝子を制御する TCS とその阻害剤を、ついで増殖には関与しないが、病原性遺伝子の発現を制御する TCS とその阻害剤について紹介する。

2. 新規抗菌剤の標的としての TCS

2-1. WalK/WalR TCS WalK/WalR,¹²⁻¹⁸⁾ YhcS

/YhcR,¹⁹⁾ HP165/HP166,²⁰⁾ MtrB/MtrA²¹⁾ (それぞれ前者が HK, 後者が RR を示す) はヒトに対する病原菌の増殖に必要な遺伝子の発現を制御する TCS である (Table 1). 特に WalK/WalR は *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*²²⁾ などのグラム陽性菌の細胞分裂や増殖に関与する遺伝子の発現を制御している [Fig. 1(a)]. WalK/WalR システムは最初、機能が未知のために、YycG/YycF, VicK/VicR, MicA/MicB 等と呼ばれていたが、近年の研究によりこの TCS が細胞壁の代謝に重要な役割を担っていることが明らかとなり、WalK (HK), WalR (RR) と統一的に呼ばれるようになった。²³⁾ 本章では、筆者らが開発した、WalK 阻害剤 (walkmycin), WalR 阻害剤 (walrycin) について紹介する。

2-2. walkmycin 最初に WalR の変異株 (CNM2000) が野生株と比較して、WalK/WalR 情報伝達の各過程に特異的に作用する阻害剤に対して

Table 1. TCS as Potential Drug Targets

TCS (HK/RR)	Bacterium	Function	Regulated gene	Disease	Ref.
Essential TCS					
WalK/WalR*	<i>S. aureus</i>	Cell wall metabolism	<i>isaA, ssaA, lytM</i>	Opportunistic infection	12
	<i>S. pneumoniae</i>	Cell wall metabolism	<i>pcsB, lytN, fabK, pspA, piaBCDA</i>	Pneumoniae	13
	<i>S. mutans</i>	Biofilm formation	<i>gtfBCD, ftf, gdpB</i>	Caries	14
	<i>S. pyogenes</i>	Cell wall metabolism	Unknown	Necrotizing fasciitis	15
	<i>S. epidermidis</i>	Cell wall metabolism	Unknown	Opportunistic infection	16
	<i>L. monocytogenes</i>	Unknown	Unknown	Listeriosis	17
	<i>E. faecalis</i>	Unknown	Unknown	Urinary tract infection Bacterial endocarditis	18
YhcS/YhcR	<i>S. aureus</i>	Unknown	Unknown	Opportunistic infection	19
HP165/HP166	<i>H. pylori</i>	Unknown	Unknown	Chronic gastritis	20, 47
MtrB/MtrA	<i>M. tuberculosis</i>	Unknown	<i>dnaA</i>	Tuberculosis	21, 48
Non-Essential TCS					
QseC/QseB	EHEC	Quorum sensing		Bloody diarrhea, HUS	11, 32
		Regulation of the flagellar regulon	<i>flhDC</i>		
		Regulation of the LEE gene	<i>ler</i>		
		Shiga toxin	<i>stx</i>		
AgrC/AgrA	<i>S. aureus</i>	Adhesion, Invasive factor	RNAIII	Opportunistic infection	9, 33
FsrC/FsrA	<i>E. faecalis</i>	Protease	<i>gelE, sprE</i>	Opportunistic infection	40
GacS/GacA	<i>P. aeruginosa</i>	Lipase, Elastase, Biofilm, Virulence	<i>rsmY, rsmZ</i>	Opportunistic infection	29, 41
PhoQ/PhoP	<i>S. enterica</i>	Virulence, Cationic antimicrobial		Diarrhea	45, 46
		Peptide resistance	<i>ugd, pbgD</i>		

S. aureus: *Staphylococcus aureus*; *S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*; *S. mutans*: *Streptococcus mutans*; *S. pyogenes*: *Streptococcus pyogenes*; *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*; *L. monocytogenes*: *Listeria monocytogenes*; *H. pylori*: *Helicobacter pylori*; *M. tuberculosis*: *Mycobacterium tuberculosis*. EHEC: Enterohemorrhagic *Escherichia coli*; *E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*; *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *S. enterica*: *Salmonella enterica*. * also known as YycG/YycF, VicK/VicR, MicA/MicB.

高感受性を示す性質を利用したスクリーニング方法 (Differential growth assay) が確立された [Fig. 2(a)].²⁴⁾ 次に、この方法を用いて、放線菌の培養抽出物 1368 検体のスクリーニングを実施した。土壌より分離した一放線菌、*Streptomyces* sp. MK632-100F11 株の培養抽出物から、シリカゲルカラムクロマトグラフィー及び HPLC により 3 つの抗菌性化合物を単離した [Fig. 2(b)]. 3 つの化合物についての構造解析を行った結果、di-anthracenone 骨格を持つ化合物であることが判明し、walkmycin A, B, C とした。主成分 walkmycin B [C₄₄H₄₄Cl₂O₁₄, Fig. 1(a)] の *B. subtilis* と *S. aureus* に対する最小生育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) は、それぞれ、0.39 µg/mL と 0.20 µg/mL であった。また、*B. subtilis* と *S. aureus* の WalK 自己リン酸化活性に対する 50% 阻害濃度 (IC₅₀) は、それぞれ、1.6 µM, 5.7 µM であった。*B. subtilis* の WalK と walkmycin B 間の親和性を調

べるために表面プラズモン共鳴法による解析を行った結果、解離定数 K_d は、7.63 µM であった。MRSA, VRE に対する walkmycin A, B, C の抗菌評価においては、walkmycin A, B, C は MRSA, VRE に対して、MIC (MRSA, 0.125–0.5 µg/mL; VRE, 1–8 µg/mL) を示した [Fig. 1(a)].⁷⁾ これらの結果より、walkmycin は WalK の特定部位に作用して、ヒスチジンキナーゼ活性を阻害する最初の新規な抗生物質と同定された。^{25,26)}

2-3. walrycin B WalR タンパク質に対する分子標的剤の開発を実施するために、WalR の立体構造を X 線結晶構造解析法により決定した。WalR タンパク質が N 末端ドメインと C 末端ドメイン構造を有することを明らかにするとともに、WalK/WalR 情報伝達機構の構造生物学的研究を行った。最初に DNA 結合ドメイン (WalR-C) の結晶化を行い、X 線結晶構造解析法によって立体構造決定を行った。WalR-C は、典型的なレスポンスレギュ

Fig. 2. Sensitivity of *B. subtilis* 168 and CNM2000 to Antibacterial Agents

(A) 1 μ L of antibacterial agents (50 μ g mL⁻¹) were spotted on agar plates containing *B. subtilis* 168 (left) or CNM2000 (right): Cefazolin (1), Amikacin (2), Vancomycin (3), Erythromycin (4), Ofloxacin (5), NH127 (6). NH127 is a nonspecific HK inhibitor. (B) 1 μ L of walkmycin A, B, and C (1000, 250, 62.5 μ g mL⁻¹) were spotted on agar plates containing *B. subtilis* 168 (left) or CNM2000 (right) with differential growth assay.²⁴⁾

レーターである OmpR/PhoB ファミリーに属し、DNA 結合タンパク質の特徴的な構造を示した。²⁷⁾ また、WalR-C と標的 DNA との複合体モデルから、DNA 結合に係わる WalR のアミノ酸残基が予測され、これらのアミノ酸への変異導入を行った WalR のゲルシフト法解析により、DNA 結合能の低下がみられたことから、DNA 認識に係わるアミノ酸を立体モデルから明らかにした。次に、WalR の二量体形成ドメイン (WalR-N) の結晶化を行い、X 線結晶構造解析法によって立体構造決定を行った。WalR-N は、活性に重要な二量体 ($\alpha 4$ - $\beta 5$ - $\alpha 5$) を結晶構造中で形成しており、WalR タンパク質の制御機構として二量体形成することを結晶構造から証明した。²⁸⁾ 一般に RR は二量体の状態で制御下遺伝子の制御領域に結合することが知られていることから、WalR は二量体として増殖に必須な標的遺伝子の制御領域に存在する反復配列 [5'-TGT(A/T)A(A/T/

C)-N5-TGT(A/T)A(A/T/C)-3'] に結合することが明らかにされた (Fig. 3)。

このように WalR の二量体化が黄色ブドウ球菌の増殖に必須であると考えられたので、WalR の二量体化を阻害する化合物を選択的に単離するハイスループットなスクリーニング手法 (HD-WalR) を開発した。HD-WalR 法を用いて化合物ライブラリーのハイスループットスクリーニングを実施した結果、walrycin B が単離された [Fig. 1(a)].⁸⁾ walrycin B の *B. subtilis* と *S. aureus* に対する MIC は、それぞれ 0.78 μ g/mL, 3.13 μ g/mL であり、MRSA と VRE に対する MIC は、それぞれ 4 μ g/mL, 8 μ g/mL であった。また、*in vitro* においてリン酸化された WalK から WalR に対するリン酸基転移を阻害するか検討したところ、walrycin B 濃度依存的に阻害が確認された。さらに、作用解析を行ったところ、*B. subtilis* と *S. aureus* とともに、walry-

Fig. 3. DNA Binding Model of Phosphorylated WalR

cin B に対して、過剰発現株で 2-4 倍の耐性化が確認された。次に walrycin B の *B. subtilis* と *S. aureus* の細胞形態に及ぼす効果を調べた結果、walrycin B は *B. subtilis* の細胞分裂を阻害し、伸張したフィラメント細胞を出現させた。さらに、walrycin B による WalR 制御遺伝子群の発現に与える影響について検討した。その結果、枯草菌において WalR によって正の制御を受ける 3 つの遺伝子群、*ydjM* や *yocH*, *yvcE* は walrycin B 添加 5 分後に発現量の低下が確認され、負の制御を受ける遺伝子群 *yoeB* と *yjeA* においては発現量の増大が確認された。同様のことが、*S. aureus* の WalR 制御遺伝子 *isaA* と *ssaA* で確認された。これらより、walrycin B は WalR に直接作用して、その転写制御機能を阻害していることが明らかになった。

以上の結果より、筆者らは MRSA や VRE に対しても有効な WalK 阻害剤 walkmycin B と WalR 阻害剤 walrycin B を単離することに成功し、WalK, WalR が MRSA, VRE の新規抗生物質開発のための標的として有望であることを示した。

3. 病原性を制御する TCS

病原菌の病原性因子は、宿主への侵入に関与するプロテアーゼやリパーゼ、毒素の生産や分泌等が含まれる。もう 1 つの重要な因子は宿主へ到達するための運動性、宿主への付着、コロニー形成、環境適応に係わる因子である。病原菌は、宿主へ侵入するときの pH や浸透圧の変化、あるいは抗菌ペプチドのような宿主からの抵抗などの環境変化に適応して

いくために、TCS によって病原性遺伝子の発現の調節が行われる。例えば、様々な環境に生息する *Pseudomonas aeruginosa* は 64 個の HK と 72 個の RR がある。これらの TCS のうち、19 個の TCS は病原性や抗生物質耐性に関与する。²⁹⁾ グラム陽性菌の *S. pneumoniae* も 13 個の TCS のうち 10 個が病原性に関与する。本章は抗病原性薬剤の標的となり得る 5 個の TCS の分子メカニズムについて言及する (Table 1)。

3-1. QseC/QseB 腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC) O157:H7 の病原性遺伝子 (locus of enterocyte effacement: LEE) の発現は細胞密度が上昇したとき、EHEC によるオートインデューサー 3 (AI-3) の分泌とともに急速に誘導される (Quorum Sensing, QS).³⁰⁾ さらに、LEE1 遺伝子の発現はヒトのホルモンであるエピネフリン、ノルエピネフリンの添加によっても誘導される。³¹⁾ QseC/QseB は AI-3、エピネフリンとノルエピネフリン等のシグナル分子に応答する TCS である。つまり、これらのシグナル分子はセンサーである QseC (HK) に直接作用し、QseC の自己リン酸化を促進する。リン酸化された QseC は QseB (RR) と相互作用し、リン酸基を QseB に転移させる。リン酸化された QseB は EHEC の病原性遺伝子のプロモーターに結合し、それらの発現を誘導する。QseC/QseB は生存に必須な遺伝子を制御していないので、QseC/QseB の阻害剤は EHEC 細胞を殺すことなく病原性遺伝子の発現のみを抑制することができる [Fig. 1(b)]。

QseC の活性化を阻害する化合物を探索するため、EHEC の *Leel-lacZ* レポーター株を用いたハイスループットスクリーニングが 150000 化合物の中から行われた。¹¹⁾ その結果発見された化合物 LED209 は AI-3、エピネフリン、ノルエピネフリンが QseC に結合することを阻害する。つまり LED209 は QseC の自己リン酸化を阻害すると同時に、EHEC の病原性遺伝子の *LEE1*, *flhDC* と *stx2A* を抑制する。また、LED209 は EHEC の病原性を *in vitro* と *in vivo* の両方において抑制するが、増殖は阻害しない。QseC のホモログは少なくとも 25 種類のヒトや植物の病原菌に存在するため、QseC の阻害剤は様々な病原菌の抗病原性薬剤となることが期待される。³²⁾

3-2. *AgrC/AgrA* *Staphylococcus aureus* は autoinducing cyclic thiolactone peptides (AIPs) を生産し、細胞外に分泌する。*S. aureus* の病原性は AIPs と *AgrC/AgrA* TCS (*agr* QS システム) によって制御される。³³⁾ *agr* QS システムの下で、シグナル AIPs は最初に生産される *AgrD* が細胞膜を通過するとき生産され、細胞膜上に存在する *AgrB* によって修飾される。修飾された AIPs がセンサー *AgrC* に作用すると、*AgrC* がリン酸化され *AgrA* にリン酸基を転移させる。³⁴⁾ リン酸化された *AgrA* は RNA III 遺伝子と *agrB* の間の領域に直接結合し、RNA III の転写を促進する。RNA III は付着性因子の発現を負に制御する一方で、プロテアーゼや分泌される毒素、リパーゼのような侵入性の病原性因子の発現を正に制御する。³³⁾ 宿主の血清中に存在する先天的な防御因子であり、リポプロテインの主要な構造タンパク質であるアポリポプロテイン B は AIP1 を隔離することによって *agr* QS システムを阻害することが報告されている。³⁵⁾

3-3. *FsrC / FsrA* *Enterococcus faecalis* の病原性遺伝子であるゼラチナーゼ遺伝子 *gelE* (encoding a metalloprotease) と *sprE* (encoding a serine protease)³⁶⁾ は同じオペロン上に位置し、ラクトン環を持つ環状ペプチドで細胞外に分泌される GBAP (gelatinase biosynthesis activating pheromone) を濃度依存的に発現する。³⁷⁾ GBAP の生産と分泌は TCS である *FsrC/FsrA* によって正に制御される。また、GBAP は *FsrC/FsrA* が *fsrBDC* と *gelE-sprE* の遺伝子発現を制御しゼラチナーゼとセリンプロテアーゼを生産させ、病原性を引き起こさせるきっかけを作る。そのため、*FsrC/FsrA* の阻害剤は *E. faecalis* の病原性を抑制することが期待される。*fsr* QS の阻害剤を探索するため、ゼラチナーゼと GBAP の生産が抑制される化合物が放線菌抽出物からスクリーニングされた。³⁸⁾ ペプチド抗生物質である Siamycin I はスクリーニングにより選ばれた放線菌抽出物の上清より単離された。Siamycin I は *FsrC/FsrA* を経る GBAP シグナリングを阻害し、*fsrBDC* と *gelE-sprE* の転写を抑制する。

3-4. *GacS/GacA* *Pseudomonas aeruginosa* の病原性はセンサーヒスチジンキナーゼの *GacS* と RetS の相互作用によって決定される。³⁹⁾ *P. aer-*

uginosa において *GacS/GacA* は small RNA をコードする *rsmY* と *rsmZ* 遺伝子の転写を正に制御する。*RsmY* と *RsmZ* は *RsmA* (RNA-binding-protein) と相互作用し、アシルホモセリンラクトン、ピオシアニン、リパーゼ、エラスターゼ、バイオフィルム形成、運動性などの病原性因子を調節する。⁴⁰⁾ また、*Vibrio vulnificus* においても *GacA* は small RNA (*csrB1*, *csrB2*, *csrB3*) の転写を正に制御しており、*gacA* の欠損株においてそれらの転写は減少する。結果として、*V. vulnificus* の *GacA* 欠損株は細胞毒性、プロテアーゼ活性、夾膜多糖類や鉄の取り込みのための能力が減少し、鉄の非存在下においては病原性が低下する。⁴¹⁾ *GacS/GacA* システムは、哺乳類に対する病原菌のみならず、昆虫や植物などに対する病原菌においてもみられ、それらの病原性に関与していることから *GacS/GacA* システムは病原性抑制剤の標的として魅力的であると考えられる。これまでのところ、*GacS/GacA* を標的とする薬剤の報告はないが、今後期待される。

3-5. *PhoQ/PhoP* *Salmonella enterica* の TCS のうち、*PhoQ/PhoP* システムが病原性の主要な制御を行っている。センサー *PhoQ* は細胞外の Mg^{2+} の濃度を感知し、RR である *PhoP* を経て *S. enterica* の約 3% の遺伝子の発現を調節すると推定されている。⁴²⁾ *PhoQ/PhoP* システムは上皮細胞への侵入、食細胞中での生存、抗菌ペプチドに対する耐性などの *Salmonella* の能力を制御していると考えられる。^{43,44)} HK は特徴的な ATP 結合ドメインの特徴 (ATP-binding Bergerat fold) が *GHL* (gyrase, *Hsp90*, *MutL*) ファミリータンパク質と同様であることから、⁴⁵⁾ *GHL* 阻害剤と *PhoQ* の触媒ドメインとの相互作用が NMR の化学シフト摂動法によって解析された。阻害剤のうち、ラジコール (*Hsp90* の阻害剤) が *PhoQ* の ATP 結合ポケットのアミノ酸残基と特異的に結合し、相互作用していることが結晶構造解析により明らかとされた。ラジコールは比較的低いアフィニティーではあるが、*PhoQ* の自己リン酸化活性を阻害した (1 mM のラジコールで 10% 阻害)。これは、*GHL* の阻害剤が HK 阻害剤として開発するためのリード化合物として利用可能であることを示しているが (この場合は *PhoQ* に対してだけでなく、様々な HK に対する阻害剤である)、⁴⁶⁾ HK に対する選択性を他の哺乳類の酵素

の ATP 結合部位に対する選択性とを比較する必要がある。

4. まとめ

このように、本誌で紹介された細菌情報伝達阻害剤は、情報伝達システムを阻害し、その標的となる遺伝子発現を制御することで、病原菌の病原性の抑制並びに増殖阻害(死滅)させることが可能であり、既知抗生物質に耐性な病原菌にも有効に作用する。また、その作用の特徴として、病原菌を殺さずにその疾病を治癒する効果が示されており、耐性菌の出現頻度が極めて低く、21 世紀の環境調和型薬剤と位置づけられる。細菌情報伝達阻害剤研究は、今まで踏み込まれていない未知の分野であり、20 世紀代謝系阻害剤(既知抗生物質)が製薬産業の主要な活力(黄金時代)であったように、21 世紀における製薬産業の新しい起爆剤となることが期待される。

謝辞 本稿をまとめるにあたり尽力頂きました、近畿大学大学院農学研究科 岡本尚博士(現、遺伝研)、江口陽子博士、土井章弘博士(現、理化学研究所)、大阪大学産業科学研究所、岡島俊英准教授に感謝いたします。本総説における、WalK/WalR 阻害剤の開発研究は生研センター異分野融合支援事業“環境調和を考慮した細菌情報伝達阻害型薬剤の開発”、科学技術振興機構研究成果展開事業 A-STEP 本格研究開発 起業挑戦タイプ(AS2123003G)、科研費基盤研究 A (20248012)、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(S1101035)の助成で実施された成果で、(公財)微生物化学研究会、微生物化学研究所研究員のみなさん、近畿大学大学院農学研究科バイオサイエンス専攻分子生物学研究室の院生、研究員の協力の賜物です。ここに、厚く御礼申し上げます。

REFERENCES

- 1) Gao R., Stock A. M., *Annu. Rev. Microbiol.*, **63**, 133–154 (2009).
- 2) Eguchi Y., Utsumi R., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **631**, 1–6 (2008).
- 3) Mitrophanov A. Y., Groisman E. A., *Genes Dev.*, **22**, 2601–2611 (2008).
- 4) Walsh C., “Antibiotics,” ASM Press, Washington D.C., 2003.
- 5) Dubrac S., Msadek T., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **631**, 214–228 (2008).
- 6) Watanabe T., Okada A., Gotoh Y., Utsumi R., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **631**, 229–236 (2008).
- 7) Okada A., Igarashi M., Okajima T., Kinoshita N., Umekita M., Sawa R., Inoue K., Watanabe T., Doi A., Martin A., Quinn J., Nishimura Y., Utsumi R., *J. Antibiot.* (Tokyo), **63**, 89–94 (2010).
- 8) Gotoh Y., Doi A., Furuta E., Dubrac S., Ishizaki Y., Okada M., Igarashi M., Misawa N., Yoshikawa H., Okajima T., Msadek T., Utsumi R., *J. Antibiot.* (Tokyo), **63**, 127–134 (2010).
- 9) Cegelski L., Marshall G. R., Eldridge G. R., Hultgren S. J., *Nat. Rev. Microbiol.*, **6**, 17–27 (2008).
- 10) Dong Y. H., Wang L. H., Xu J. L., Zhang H. B., Zhang X. F., Zhang L. H., *Nature*, **411**, 813–817 (2001).
- 11) Rasko D. A., Moreira, C. G., Li de R., Reading N. C., Ritchie J. M., Waldor M. K., Williams N., Taussig R., Wei S., Roth M., Hughes D. T., Huntley J. F., Fina M. W., Falck J. R., Sperandio V., *Science*, **321**, 1078–1080 (2008).
- 12) Martin P. K., Li T., Sun D., Biek D. P., Schmid M. B., *J. Bacteriol.*, **181**, 3666–3673 (1999).
- 13) Lange R., Wagner C., de Saizieu A., Flint N., Molnos J., Stieger M., Caspers P., Kamber M., Keck W., Amrein K. E., *Gene*, **237**, 223–234 (1999).
- 14) Senadheera M. D., Guggenheim B., Spatafora G. A., Huang Y. C., Choi J., Hung D. C., Treglown J. S., Goodman S. D., Ellen R. P., Cvitkovitch D. G., *J. Bacteriol.*, **187**, 4064–4076 (2005).
- 15) Liu M., Hanks T. S., Zhang J., McClure M. J., Siemsen D. W., Elser J. L., Quinn M. T., Lei B., *Microbiology*, **152**, 967–978 (2006).
- 16) Qin Z., Zhang J., Xu B., Chen L., Wu Y., Yang X., Shen X., Molin S., Danchin A., Jiang H., Qu D., *BMC Microbiol.*, **6**, 96 (2006).
- 17) Kallipolitis B. H., Ingmer H., *FEMS Microbiol. Lett.*, **204**, 111–115 (2001).
- 18) Hancock L., Perego M., *J. Bacteriol.*, **184**, 5819–5825 (2002).

- 19) Sun J., Zheng L., Landwehr C., Yang J., Ji Y., *J. Bacteriol.*, **187**, 7876–7880 (2005).
- 20) Beier D., Frank R., *J. Bacteriol.*, **182**, 2068–2076 (2000).
- 21) Zahrt T. C., Deretic V., *J. Bacteriol.*, **182**, 3832–3838 (2000).
- 22) Dubrac S., Bisicchia P., Devine K. M., Msa-
dek T., *Mol. Microbiol.*, **70**, 1307–1322
(2008).
- 23) Dubrac S., Boneca I. G., Poupel O., Msadek
T., *J. Bacteriol.*, **189**, 8257–8269 (2007).
- 24) Okada A., Gotoh Y., Watanabe T., Furuta
E., Yamamoto K., Utsumi R., *Methods En-
zymol.*, **422**, 386–395 (2007).
- 25) Igarashi M., Eguchi Y., Umekita M., Wata-
nabe T., Sawa R., Utsumi R., Abstracts of
papers, the 50th Interscience Conference on
Antimicrobial Agents and Chemotherapy
(ICAAC), Boston, September 2010, F1–1617.
- 26) Eguchi Y., Kubo N., Matsunaga H., Igarashi
M., Utsumi R., *Antimicrob. Agents Che-
mother.*, **55**, 1475–1484 (2011).
- 27) Okajima T., Doi A., Okada A., Gotoh Y.,
Tanizawa K., Utsumi R., *FEBS Lett.*, **582**,
3434–3438 (2008).
- 28) Doi A., Okajima T., Gotoh Y., Tanizawa K.,
Utsumi R., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**,
1901–1907 (2010).
- 29) Gooderham W. J., Hancock R. E., *FEMS
Microbiol. Rev.*, **33**, 279–294 (2009).
- 30) Sperandio V., Mellies J. L., Nguyen W., Shin
S., Kaper J. B., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,
96, 15196–15201 (1999).
- 31) Sperandio V., Torres A. G., Jarvis B., Nataro
J. P., Kaper J. B., *Proc. Natl. Acad. Sci.
USA*, **100**, 8951–8956 (2003).
- 32) Njoroge J., Sperandio V., *EMBO Mol. Med.*,
1, 201–210 (2009).
- 33) George E. A., Muir T. W., *ChemBioChem*, **8**,
847–855 (2007).
- 34) Lina G., Jarraud S., Ji G., Greenland T., Van-
denesch F., *Mol. Microbiol.*, **28**, 655–662
(1998).
- 35) Peterson M. M., Mack J. L., Hall P. R., Al-
sup A. A., Alexander S. M., Sully E. K., Sa-
wires Y. S., Cheung A. L., Otto M., Gresham
H. D., *Cell Host Microbe*, **4**, 555–566 (2008).
- 36) Qin X., Singh K. V., Weinstock G. M., Mur-
ray B. E., *Infect. Immun.*, **68**, 2579–2586
(2000).
- 37) Nakayama J., Cao Y., Horii T., Sakuda S.,
Akkermans A. D., de Vos W. M., Nagasawa
H., *Mol. Microbiol.*, **41**, 145–154 (2001).
- 38) Nakayama J., Tanaka E., Kariyama R., Naga-
ta K., Nishiguchi K., Mitsuata R., Uemura
Y., Tanokura M., Kumon H., Sonomoto K.,
J. Bacteriol., **189**, 1358–1365 (2007).
- 39) Goodman A. L., Merighi M., Hyodo M., Ven-
tre I., Filloux A., Lory S., *Genes Dev.*, **23**, 249
–259 (2009).
- 40) Lapouge K., Schubert M., Allain F. H., Haas
D., *Mol. Microbiol.*, **67**, 241–253 (2008).
- 41) Gauthier J. D., Jones M. K., Thiaville P.,
Joseph J. L., Swain R. A., Krediet C. J., Gu-
lig P. A., Teplitski M., Wright A. C., *Microbi-
ology*, **156**, 3722–3733 (2010).
- 42) Miller S. I., Mekalanos J. J., *J. Bacteriol.*,
172, 2485–2490 (1990).
- 43) Fields P. I., Groisman E. A., Heffron F.,
Science, **243**, 1059–1062 (1989).
- 44) Miller S. I., Kukral A. M., Mekalanos J. J.,
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **86**, 5054–5058
(1989).
- 45) Dutta R., Inouye M., *Trends Biochem. Sci.*,
25, 24–28 (2000).
- 46) Guarnieri M. T., Zhang L., Shen J., Zhao R.,
J. Mol. Biol., **379**, 82–93 (2008).
- 47) Dietz P., Gerlach G., Beier D., *J. Bacteriol.*,
184, 350–362 (2002).
- 48) Fol M., Chauhan A., Nair N. K., Maloney E.,
Moomey M., Jagannath C., Madiraju M. V.,
Rajagopalan M., *Mol. Microbiol.*, **60**, 643–
657 (2006).