

抗生素研發的再起—全新的標靶

鍾欣怡¹ 彭銘業²

三軍總醫院 ¹臨床病理科
佛教慈濟綜合醫院台北分院 ²感染科

人類使用抗生素治療細菌性感染的歷史雖不到一百年，多重抗藥性菌株卻已悄然生成，如今這些抗藥細菌已成為人類健康所面對的重要問題。直至今日已有學者認為無藥可用的“後抗生素年代”已經來臨，因此全新抗生素的研發是刻不容緩的事情。學者們在細菌細胞壁合成步驟及細胞壁外尋找不同的作用標靶，期望能跳脫以往抗生素設計所使用的框架進而創造出新一代的抗生素。在本文中將介紹新興抗生素研發的標靶篩選方式，以及整理出目前進行的抗生素研究中的標靶，並提供一種抗生素的新治療思維。希望這些研究最終能開發出全新的抗生素，以延續人類使用抗生素的時代。（**感控雜誌 2011:21:111-117**）

關鍵詞： 抗生素，新興標靶

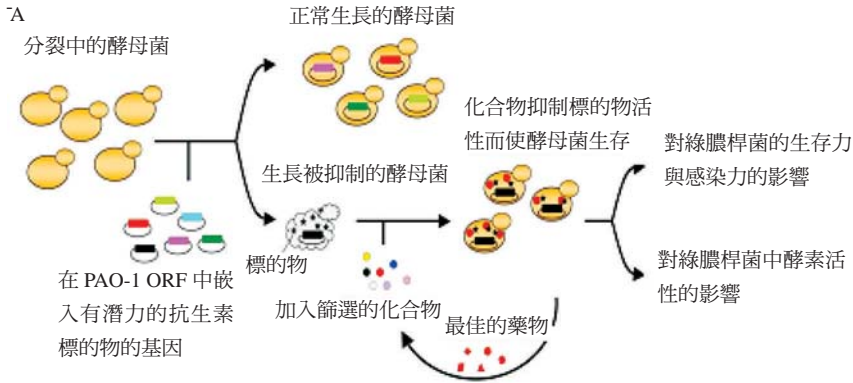
抗生素之研發歷程

人類從 1940 年便開始使用抗生素來治療細菌所造成的感染，但是在使用的同時亦產生出抗藥性細菌，如今世界各地已經產生多重抗藥菌株，因此有學者預言感染症無藥可用的所謂的後抗生素年代已經來臨[1]。為了延續使用抗生素世代，並避免人類面對細菌感染發生卻無藥可用的窘境，學者利用目前已具備分子生物學及微生物相關知識，試圖跳脫舊有的抗生

素結構框架，改變研發策略以找出不同的藥理機轉，期能以產生新一代抗生素。新抗生素的篩檢方式分為直接模擬化合物與標靶鍵結，並且在體外觀察鍵結效率再進行體內試驗。體內試驗部份以兩個模式較為新穎，分別為利用酵母菌表現型篩選法 (cell-based phenotypic assay) 及線蟲做為動物模型進行篩選。酵母菌表現型篩選法在 2008 年由 Arnoldo et al. 的團隊所發展 (圖一)[2]，其原理是將細菌中一段對宿主有毒性的基因放入酵母菌

民國 99 年 9 月 17 日受理
民國 100 年 2 月 9 日修正
民國 100 年 2 月 23 日接受刊載

通訊作者：彭銘業
通訊地址：新北市新店區建國路289號
連絡電話：(02) 66289779 轉 5359



圖一 利用表現型 (cell-based phenotypic assay) 進行篩選圖例[2]。

內，找到會使宿主 (酵母菌) 致死的基因段，並且針對此基因段產生蛋白質的拮抗物質，一同加入有此段基因的酵母菌一同培養，若是有效能的物質便可以使宿主不死亡，這物質便可做為新藥參考。如今藉由此方式，已經找到了綠膿桿菌的 ExoS 的拮抗物。其二為利用線蟲篩選新抗生素，線蟲本身會因為一些臨床上常見的微生物感染而死亡，因此研究團隊創造出一種活生物感染的機制：將含有細菌的食物送進線蟲中，再放置於所研究的抗生素中，若藥物具有效能則會殺死線蟲中的微生物而使線蟲存活下來 [3]。這方法的好處是不需要所研究之抗生素擁有完整的藥物背景，便可模擬抗生素在人體內的情形，研究團隊希望藉由這方式能突破體外研究的一些限制。

新抗生素之新的作用標靶

學者們嘗試從現今已知的結構及

標靶位置去篩選新的抗生素，目前所使用的新的標靶可以分成抑制細菌細胞壁合成所需的酵素及其他作用位置，分述如下：

一、抑制細胞壁的合成

現有的抗生素多是針對影響細胞壁合成的蛋白酶進行作用，尤其是針對肽糖 (peptidoglycan) 的合成，因此新一代的抗生素希望利用細胞壁其他的成份進行設計。現行已經進行研究的有，針對革蘭氏陰性菌的細胞壁上的脂質 A (lipid A) 及脂多醣 (lipopolysaccharides; LPS) 以及革蘭氏陽性菌的細胞壁上獨有的磷壁酸 (teichoic acid) 等，並且也利用合成肽糖中所需之其他的蛋白酶，在研究中希望藉由認識它們合成的機轉，來針對一些重要的基因或是蛋白酶進行抑制 (表一)。

(一) 脂質 A：脂質 A 是在革蘭氏陰性菌的細胞壁上重要的一個成分，以往研究發現蛋白酶 LpxC 在合成脂

表一 目前已知新型抗生素針對的標靶位置及其所抑制的路徑[17]。

標靶位置	抑制路徑	新的抑制物質
LpxC	脂質 A	CHIR-90
Glucosyltransferase	胜糖	Moenomycin
Ddl	胜糖	D-cycloserine
MurF	胜糖	Pleurotin, (-)-epigallocatechin
Tag/tar 基因的後期步驟	壁磷壁酸	
LtaS	脂磷壁酸	
GlmU	共同前趨物質	
peptide deformylase	peptide deformylase	BB83698, LBM415
FabF, FabH	Type II fatty acid	Platensimycin, plastencin

質 A 中扮演不可或缺的角色。在 2007 年 McClerren 的團隊找到了 CHIR-090 可以同時對抗大腸桿菌、綠膿桿菌及奈氏特菌的新抗生素[4]。

(二) 磷壁酸：磷壁酸是革蘭氏陽性細菌中所特有的成分，它包含兩個種類，一種是嵌在胜糖上的壁磷壁酸 (wall teichoic acid; WTA) 及一種是嵌在細胞膜上的脂磷壁酸 (lipoteichoic acid; LTA)。現今針對枯草桿菌中合成 WTA 的機轉了解較為完整，以往文獻也在實驗中發現一件有趣的現象，當他們去掉了參與 WTA 合成步驟的初期基因時，細菌並不會死亡，相反的若刪去參與合成步驟的後期基因時，卻會使得細菌邁向死亡[5-6]，因此發現負責磷壁酸合成的最後步驟的基因比前期重要，這給針對磷壁酸研發抗生素的學者一個努力的方向。至於 LTA 的部分，則有團隊從金黃色葡萄球菌中分離出蛋白酶 LtaS，他們發現當限制蛋白酶 LtaS 產生時，會使細菌

有生長停滯及不健全的細胞分裂的現象[7]，因此提供針對臨床上重要的金黃色葡萄球菌感染，一個新抗生素的研發目標。

(三) 胜糖：胜糖是細菌的細胞壁中共通的成份。現行的抗生素 (如 β -lactam 類) 多是針對於胜糖的合成步驟進行反應的，因此對於其中的所需要的蛋白酶與作用機轉的了解亦為詳盡。針對於胜糖合成的後期步驟中，有兩種蛋白酶的活性非常重要，分別為 glucosyltransferases (GT) 及 transpeptidases (TP)，這亦是 β -lactam 類藥物結合的地方。研究團隊發現金黃色葡萄球菌的 (penicillin binding protein2; PBP2)，這是一個同時含有 GT 和 TP 的蛋白酶，並且分析出其蛋白質結構並依其找到一個抑制劑-moenomycin [8,9]，這結果提供了以 GT 結構為基礎的設計平台，並新抗生素製劑的方向。而在已往抗生素中多為針對合成步驟中將單一分子組裝

起來的部分，這部分是在細胞質外合成的終止步驟，因此在新思維中是希望能抑制肽糖合成的前期步驟所使用的蛋白酶。Murakami et al 的團隊已經發現針對生成 D-Ala - D-Ala 的生物合成的步驟中所要求的蛋白酶 Ddl[10-12]，並找到抑制劑 D-cycloserine，並有蛋白酶 MurF (它也是屬於前期步驟中須要的蛋白酶) 的抑制劑 pleurotin 以及 (-)-epigallocatechin[8-9]，這些蛋白酶都是在細胞質內進行其反應的，與之前大部份的抗生素在細胞外作用有所不同。

(四) 合成細胞壁的過程中的共同物質：多數的研究著重在單一的物質的合成，有人則提出利用細胞壁成分所必須共用的蛋白酶來進行研究，希望藉由單一抗生素即可以使細胞壁所有的物質都無法合成。Pereira et al. 的研究團隊利用 Glm U，它是原核生物中獨有的一種雙功能的蛋白酶，主要是催化 UDP-N-acetylglucosamine 這個重要細胞壁前驅物的生成，他們也發現一個針對 Glm U 的抑制物質[13]，它可以使 Glm U 的活性下降，這也帶出研究新一代抗生素的另一個新契機。

二、非針對細胞壁的抗生素

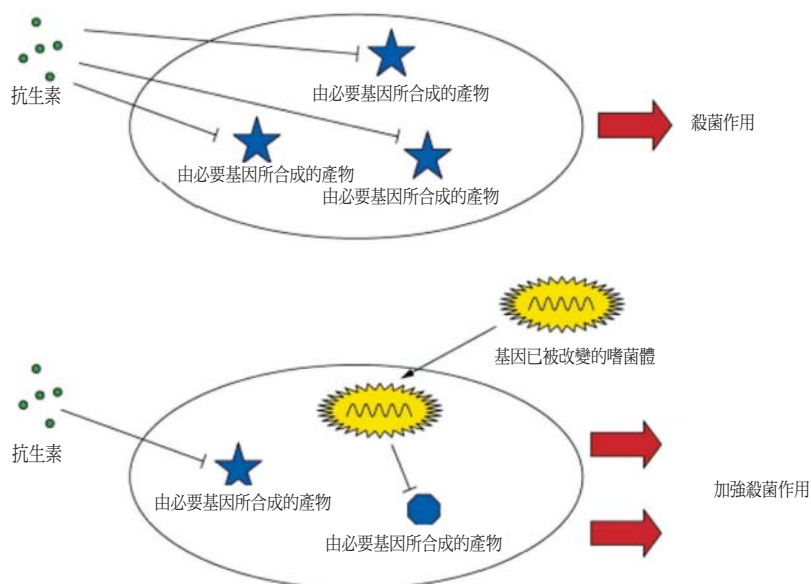
(一) peptide deformylase (PDF)：除了細胞壁合成的部分之外，現在針對 peptide deformylase (PDF) 也有所研究，PDF 是一個原核生物中在進行蛋白質合成時所需要的一個蛋白酶，它

將 tRNA 加上 formylmethionent-chain，才使細胞開始進行一連串的蛋白質轉譯動作，現在有團隊針對 PDF 的抑制劑產生 (如 BB83698 及 LBM415)，並進行臨床人體試驗的研究[14]，但是卻發現細菌卻可以利用增加 PDF 的方式產生抗性[12]，因此針對 PDF 的研究陷入了瓶頸。

(二) Type II fatty acid：針對 Type II fatty acid 的合成 (FASII) 也是一個抗生素發展的研究重點，Weight 及 Reynolds 的團隊找到 Platensimycin 與 plastencin 可以抑制 FASII 的合成流程[15]，但其抑制的機轉依然不明朗，同時亦發現像金黃色葡萄球菌這一類基因中 GC 含量較低的細菌中，它們會越過抑制劑的作用而存活下來，因此針對 FASII 的方式做設計的抗生素還需要針對 GC 含量較低的細菌有所考量。

新的治療應用思維

細菌的天敵 — 噬菌體 (bacteriophage)，如今也可以成為一種抗微生物的製劑，但其設計的方式並不是針對直接殺死細菌的基因，而是針對次等重要的基因，好作為現行抗生素的輔助劑 (圖二)。例如一些喹諾酮類 (quinolone) 的抗生素使細菌的 DNA 受破壞，當呈現出破損的 DNA 時，帶有抗藥性的細菌會進行 SOS 流程將 DNA 修補，而使得細菌不被抗生素破壞，噬菌體所攜帶的基因是針對 SOS



圖二 新的治療應用思維[16]。

的流程進行破壞，雖然所攜帶的是針對次要基因進行設計，單獨使用並不會直接造成細菌死亡，但對正被喹諾酮類的抗生素影響的細菌，會因過度表現 SOS 流程而導致死亡，如此可加強正在使用之抗生素的作用。現在 Lu 及 Collins 的團隊已成功在動物實驗中有很好的結果[16]，希望臨床試驗中亦可達到如此良好的效果。

結語

臨床上能治療多重抗藥性細菌感染的抗生素已十分有限，發展全新一代的抗生素是一件刻不容緩的工作與使命，如今許多的專家分別在細菌的細胞壁上以及細菌特有的蛋白酶上找尋新的標的物，甚至已有團隊希望藉

由其他的生物 (如線蟲及噬菌體) 幫我們找到不同以往的使用抗生素思維，這些發現可以使我們突破原有的抗生素發展的架構，寄望藉由研發新藥以增加目前抗生素的儲備庫，才能延續繼續使用抗生素時代。

參考文獻

1. Livmore DM: Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrobial Chemother* 2009;64:i29-i36.
2. Arnoldo A, Curak J, Kittanakom S, et al: Identification of small molecule inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S using a yeast phenotypic screen. *PLoS Genet* 2008; 4:e1000005.
3. Moy TI, Ball AR, Anklesaria Z, et al: Identification of novel antimicrobials using a live-animal infection model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:10414-9.
4. Barb AW, Jiang L, Raetz CR, et al: Structure of

- the deacetylase LpxC bound to the antibiotic CHIR-090: time-dependent inhibition and specificity in ligand binding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:18433-8.
5. D'Elia MA, Millar KE, Beveridge TJ, et al: Wall teichoic acid polymers are dispensable for cell viability in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* 2006;188:8313-6.
 6. D'Elia MA, Pereira MP, Chung YS, et al: Lesions in teichoic acid biosynthesis in *Staphylococcus aureus* lead to a lethal gain of function in the otherwise dispensable pathway. *J Bacteriol* 2006;188:4183-9.
 7. Grundling A, Schneewind O: Synthesis of glycerol phosphate lipoteichoic acid in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:8478-83.
 8. Yuan Y, Barrett D, Zhang Y, et al: Crystal structure of a peptidoglycan glycosyltransferase suggests a model for processive glycan chain synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:5348-53.
 9. Yuan Y, Fuse S, Ostash B, et al: Structural analysis of the contacts anchoring moenomycin to peptidoglycan glycosyltransferases and implications for antibiotic design. *ACS Chem Biol* 2008;3:429-36.
 10. Kovac A, Konc J, Vehar B, et al: Discovery of new inhibitors of D-alanine:D-alanine ligase by structure-based virtual screening. *J Med Chem* 2008;11:7442-8.
 11. Murakami R, Muramatsu Y, Minami E, et al: A novel assay of bacterial peptidoglycan synthesis for natural product screening. *J Antibiot* 2009;62:153-8.
 12. Turk S, Kovac A, Boniface A, et al: Discovery of new inhibitors of the bacterial peptidoglycan biosynthesis enzymes MurD and MurF by structure-based virtual screening. *Bioorg Med Chem* 2009;17:1884-9.
 13. Pereira M, Blanchard JE, Murphy C, et al: High-throughput screening identifies novel inhibitors for the acetyltransferase activity of *Escherichia coli* GImU. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2306-11.
 14. Blake K, O'Neill AJ, Mengin-Lecreulx D, et al: The nature of *Staphylococcus aureus* MurA and MurZ and approaches for detection of peptidoglycan biosynthesis inhibitors. *Mol Microbiol* 2009;72:335-43.
 15. Brinster S, Lamberet G, Staels B, et al: Type II fatty acid synthesis is not a suitable antibiotic target for Gram-positive pathogens. *Nature* 2009;458:83-6.
 16. Lu T, Collins JJ: Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:4629-34.
 17. Falconer SB, Brown ED: New screens and targets in antibacterial drug discovery. *Curr Opin in Microbiol* 2009;12:497-504.

Resurgence of Antibiotic Agents: Novel Targets

Hsing-Yi Chung¹, Ming-Yieh Peng²

¹Division of Clinical Pathology, Tri-Service General Hospital

²Division of Infectious Diseases, Buddhist Tzu Chi General Hospital, Taipei Branch, Taipei, Taiwan

The use of antibiotics for treating bacterial infections had started recently-not more than 100 years ago. The evolution of several strains of antibiotic-resistant bacteria has become commonplace. Today, the increasing number of multidrug-resistant bacteria is a threat to human health. Some researchers even claim that we are approaching the post-antibiotic era. Therefore, there is an urgent need to develop new antibiotics. Many researchers are seeking different targets involved in bacterial cell wall synthesis, against which a new generation of antibiotics can be created using a novel scaffold. This article introduces novel phenotypic screens and antibiotic targets and also provides new strategies for treating bacterial infections. We hope that this work will aid the development of novel antibiotics and prolong the antibiotic era.

Key words: Antibiotic, novel targets