

平成 26 年 12 月 8 日

## 膜輸送バランスが抗真菌薬の活性発現に重要であることを解明 —新しい治療戦略への応用に期待—

京都大学（総長：山極壽一）の掛谷秀昭 大学院薬学研究科教授、西村慎一 同助教、徳倉将人 同学部生らの研究グループと、吉田稔 理化学研究所主任研究員らの研究グループは、細胞膜ステロールを標的にする抗真菌薬の作用には細胞膜を構成する成分の膜輸送のバランスが重要であることを明らかにし、新しい抗真菌薬や治療法の開発への応用が期待されます。

本研究成果は、2014 年 12 月 11 日に米国科学誌「Chemistry & Biology」にオンライン掲載されます。

### ポイント

- ・細胞膜ステロールを標的にする抗真菌薬の活性発現に“膜輸送バランス”が重要である。
- ・マニユマイシン A という微生物由来の化合物は、細胞膜ステロールを標的にする抗真菌薬の作用を減弱させる。
- ・ケミカルゲノミクスの解析と生化学的実験などにより、マニユマイシン A がエキソサイトーシスを阻害することを明らかにした。
- ・“膜輸送バランスモデル”を応用することで、新しい抗真菌薬の開発や治療法の開発が期待される。

細胞膜は細胞の内外を仕切るバリアとしてだけでなく、細胞を形づくり、細胞外からの刺激を細胞内に伝えるなどの大切な機能を担っています。また、細胞膜は多くの抗生物質や細菌毒素が結合し薬理活性を発揮するための場でもあり、適切な治療薬や治療方法の開発のためにも詳細な理解が求められている対象です。しかし細胞膜は脂質やタンパク質、糖鎖などの複雑な相互作用のうえに成り立っており、生体膜の構造と機能の理解は、他の生体分子集合体に比べて進んでいるとはいえ、細胞生物学において最も挑戦的な研究対象の一つです。実際、50 年以上使われている抗真菌薬の作用メカニズムでさえも、正確に理解できていないのが現状です。

近年、多くの分子から成る生体膜は均一な構造ではなく微細な環境の集合体であり、それぞれの微小環境では効果的なシグナル伝達や細胞骨格調節が進行していると考えられています。研究グループ<sup>1)</sup>では現在、研究課題の 1 つとして、生体膜微小環境の構築・維持メカニズムの解明を目指して、微小環境に作用する抗真菌剤や抗がん剤などの探索と作用機序解析研究を推進しており、これまでに、海綿に含まれるセオネラミドや海洋性放線菌が産生するヘロナミドという化合物が細胞膜脂質に結合し、細胞膜の機能を特徴的に制御することを明

らかにしてきました<sup>2,3)</sup>。今回の研究では、セオネラミドなどが認識するエルゴステロールが豊富に含まれる細胞膜ドメインの形成機構について解析し、適切に保たれた膜輸送のバランスにより、対応する細胞膜ドメインが形成されていることを明らかにしました。

本研究はまず、ステロールを標的にする抗真菌薬の作用をマニユマイシン A という微生物由来の化合物が阻害することを見出すことからスタートしました (図 1)。マニユマイシン A は抗真菌薬であるアムフォテリシン B、研究試薬として使われるフィリピンやセオネラミドの分裂酵母に対する薬理活性を完全に抑制しました。酵母を用いたケミカルゲノミクスの解析や生化学的な実験により、マニユマイシン A は細胞膜や細胞外にタンパク質などの物質を運ぶ膜輸送 (エキソサイトーシス) を低濃度で抑え、反対に、細胞膜や細胞外の物質を取りこむ輸送 (エンドサイトーシス) には高濃度でも穏やかな阻害しか示さないことが明らかになりました。さらに詳細に検討した結果、抗生物質が認識する細胞膜ステロールはエキソサイトーシスによって細胞膜へ運ばれ、エンドサイトーシスによって細胞膜から取り込まれるというモデルの提案に至りました (図 2)。

今後、エキソサイトーシスとエンドサイトーシスにより運ばれる膜小胞を構成する分子 (脂質やタンパク質) の種類と量が明らかになれば、細胞にとってのステロール分子の役割が明らかになり、ステロールを標的にする抗生物質の作用機序がより包括的に理解できると考えています。また、膜輸送バランスを調節することで抗真菌薬の作用を制御する、新しい治療法の開発も期待されます。

- 1) 京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻システムケモセラピー (制御分子学) 分野  
(URL : <http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/sc-molsci/>)
- 2) <http://www.riken.jp/pr/press/2010/20100614/>
- 3) [http://www.kyoto-u.ac.jp/static/ja/news\\_data/h/h1/news6/2013\\_1/140402\\_2.htm](http://www.kyoto-u.ac.jp/static/ja/news_data/h/h1/news6/2013_1/140402_2.htm)

#### 書誌情報 :

[DOI] <http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.10.014>

“Balance between exocytosis and endocytosis determines the efficacy of sterol-targeting antibiotics”

Shinichi Nishimura, Masato Tokukura, Junko Ochi, Minoru Yoshida, Hideaki Kakeya.

Chemistry & Biology, vol. 21. Available on line 11 December 2014.

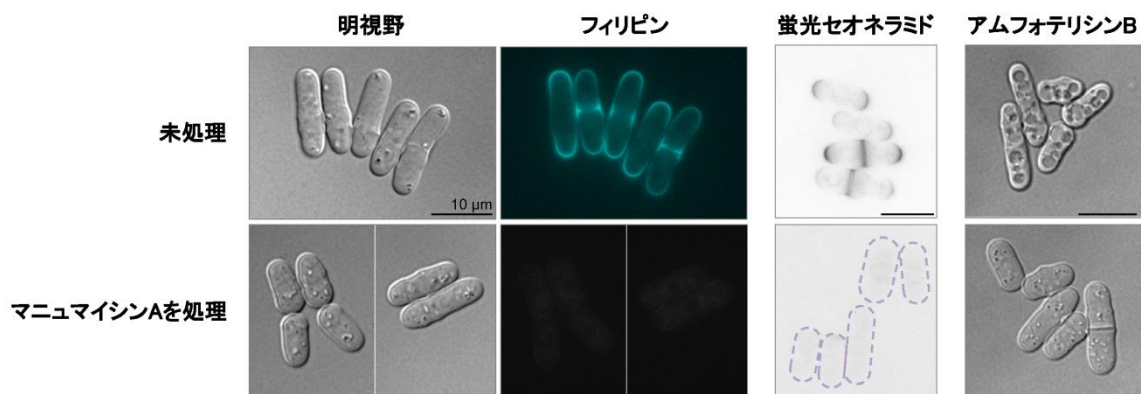


図1. マニユマイシン A による細胞膜ステロールを標的にする抗真菌薬の薬理活性抑制効果

分裂酵母において、細胞膜ステロールはフィリピンという抗生物質（ステロールに結合すると蛍光を示す）やセオネラミドという抗真菌化合物の蛍光標識体（蛍光セオネラミド）によって可視化されます（写真上段）。また、ステロールを標的にする抗真菌薬アムフォテリシン B は細胞に大きな液胞形成を誘導します（写真右上）。マニユマイシン A は、いずれの薬剤の作用も顕著に抑制します（写真下段）。ここでは、フィリピンと蛍光セオネラミドの細胞膜ステロールへの結合が阻害されている様子、およびアムフォテリシン B の作用が抑制されている様子を示しています。

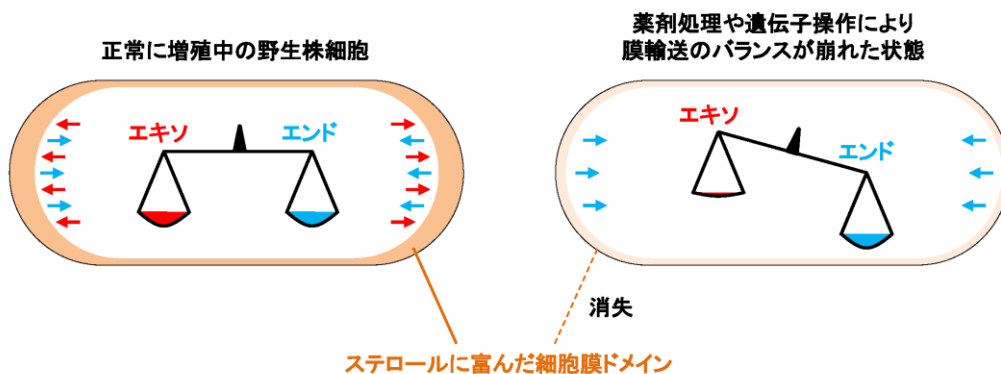


図2. 膜輸送バランスモデルのイメージ図

エキソサイトーシス（赤矢印）とエンドサイトーシス（青矢印）のバランスによって、ステロールに富み、抗生物質に認識される細胞膜ドメインの形成が制御されている。

（左）正常に増殖中の分裂酵母では細胞末端に、ステロールを標的にする抗生物質が結合する膜ドメインが存在しますが、（右）この膜ドメインは、薬剤処理や遺伝子の強制発現によりエキソサイトーシスのみを抑制すると消失します。このとき、細胞膜ステロールを認識する抗生物質の効果も減弱します。