

多剤排出ポンプが薬を輸送するメカニズムを解明

—世界初の結晶構造が示すどんな薬でも絞り出す仕組み—

概要

京都大学大学院薬学研究科 加藤博章 教授、山口知宏 同助教、中津亨 同准教授、松岡敬太 同博士課程学生、京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻 植田和光 教授（兼：京都大学物質—細胞統合システム拠点（iCeMS=アイセムス）連携PI）、小段篤史 同特任助教、木村泰久 同助教らの研究グループは、ATP（アデノシン三リン酸）を動力源として薬物を細胞外へ運び出すP糖タンパク質（ABCB1）が、どんな薬でも輸送できる仕組みの分子構造基盤を初めて明らかにしました。

ABCB1は、多種多様な異物の体内（細胞内）への侵入を防ぐ生体防御の要ですが、多くの薬も排出してしまうので双刃の剣となっています。「ABCB1がどのように多様な化学構造のクスリを認識して運ぶことができるのか？」は、薬学における最大の謎の1つでした。本研究グループは、ABCB1が動作する途中の2つの状態、すなわち、薬を捉えようと細胞内側に開いた状態と、ATPと結合して薬を細胞外へ運び出した後の状態を結晶化して、それぞれの立体構造を原子分解能で決定することに初めて成功しました。その結果、どんな薬も分子内部の巨大な袋に捉え、袋を絞るようにして排出する斬新な仕組みが明らかにされました。この成果は、革新的な新薬を生み出すために役立つと期待されます。

本研究成果は、2019年1月8日に国際学術誌「Nature Communications」にオンライン掲載されました。

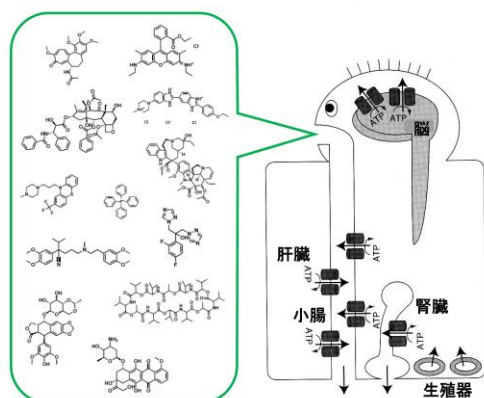
多剤排出ポンプが薬を輸送するメカニズムを解明

—世界初の結晶構造対が示すどんな薬でも絞り出す仕組み—

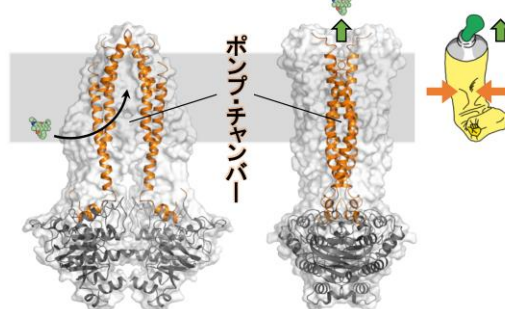
多剤排出ポンプ（P糖タンパク質）のなぞ

どうして

- ・多様な薬を認識できるのか？
- ・濃度差に逆らって一方にだけ輸送できるのか？



仕組みの鍵は
ポンプ・チャンバーの伸縮・拡張
による絞り出し



分子の仕組みが
効果的な薬の設計を可能にするだろう
すべての薬に関わる問題の解決

1. 背景

我々の身体には、外からの異物（物質）の侵入を防ぐ機能が備わっています（図 1）。この機能のおかげで、食べ物や飲み物とともに余計な物質が消化管に入ってきて細胞内部へはほとんど入りません。なぜなら、小腸上皮細胞の細胞膜に埋め込まれている数 10 ナノメートル（ナノは 10 億分の 1）ぐらいの大きさのタンパク質でできた分子ポンプが異物をくみ出しているからです。同じ分子ポンプは、肝臓や腎臓、生殖器、そして、血液脳関門の細胞膜にも存在して、それら重要な臓器の細胞内に異物が侵入することを防いでいます。

この異物排出ポンプは P 糖タンパク質または MDR1 (Multi Drug Resistance 1) と呼ばれ、ABCB1 という別名を持っています。ABC は ATP Binding Cassette（ATP 結合カセット）の頭文字をとったもの、B1 は、ABC を持つ分子のなかのサブグループ B の 1 番の分子という意味です。ABC は、生物のエネルギー通貨となっている分子 ATP（アデノシン三リン酸）の結合容器という意味ですが、その作用は、ATP を分解してエネルギーを発生させるエンジンとして機能していることです。つまり、ABCB1 は、ATP を燃料とするエンジンで駆動されるポンプで、細胞膜へ入ってくる多種多様な異物分子を認識して細胞外へと吐き出しているわけです。しかし、どのようにして形や大きさが異なる様々な薬の分子を 1 種類のポンプが取り込めるのか？どうして細胞膜内外の薬物の濃度差に逆らって細胞内から細胞外へ一方通行で輸送することができるのか？その仕組みはわかっていませんでした。これまでも ABCB1 や、それとよく似た分子の立体構造が明らかにされてきました。しかし、それらは解像度が低く、また、ABCB1 の分子の構造が変化する状態を捉えることは、多くの研究で達成できなかったことから不可能だと思われてきました。

2. 研究手法・成果

我々は、構造変化しやすくなるように ABCB1 を改変することで、分子が細胞内側に口を開けた状態（内向型）と細胞外側に口を開けた状態（外向型）の両方の状態を結晶化し、大型放射光施設 SPring-8 の BL41XU（世界最高レベルの高強度ビームを用いた回折実験が可能なタンパク質結晶解析ビームライン）を利用して、立体構造を高精度で決定することに成功しました。

外向型では、作用に必要な ATP に類似の化合物を結合させているため、ATP によって内向型から外向型へと構造変化が起る過程を詳細に調べることが初めて可能になりました。驚いたことに、内向型では、様々な大きさや形状の薬などの分子を受け入れることができる広い空間が分子内部にあるのですが、外向型では、それが収縮して狭く閉じられていることが判明したのです（図 2）。

従来は、空間は大きなままで細胞内あるいは細胞外へ開いていると、別の分子の構造から予想されていました。この予想では、細胞外の薬の濃度が高ければ逆流してしまうため、取り込まれた薬が濃度差に逆らって細胞外へ確実に排出されていくメカニズムは大きな謎でした。今回の二つの構造からは、内部の空間の細胞内部から細胞膜の中央付近までの空間が押し込められ、歯みがきチューブを絞るとペーストが押し出されるように出てくる様子が推定されます。また、大きな袋であれば、色々な形の薬を捉えることが可能で、それを萎めて押し出す仕組みは、多剤の認識と排出には理想的なメカニズムであることが洞察されます（図 3）。さらに、ATP の結合がポンプを駆動するための構造変化の詳細も明らかにすることができました（図 4）。

3. 波及効果、今後の予定

今回の成果は、薬物治療の根本的な問題の解決に貢献します。なぜなら、この生体防御の要として重要なポンプは、薬物治療にとっては敵にもなっています。薬という物質も生物にとっては異物です。投与された量の一部はこの多剤排出ポンプで細胞外へと排出されることになります。そのため、その排出量を見越して薬は多

めに飲む必要があります。抗ガン剤治療ではもっと深刻な問題を引き起こします。ある人に最初に発生したガンはある抗ガン剤によって効果的に撃退されます。しかし、そのほんの一部が残りガンが再発すると、そのガンはこのポンプを沢山作るように変異しています。すると、それまで良く効いていた抗ガン剤が排出されて効かなくなってしまうのです。そこで、医師は別のいろいろな抗ガン剤を試すのですが、そのどれもが効かなくなっているのです。この現象は、ガンの「獲得多剤耐性」とよばれています。今回の研究成果で、多剤を認識する仕組み、そして、逆流を防ぎ細胞外へ排出する仕組みが詳細にわかったことから、その仕組みを回避できる分子をデザインすれば、薬効を飛躍的に改善できることになります。しかも、このポンプはほとんどの薬の排出に関わっていることから、その機能の分子基盤の解明は、薬の全般の設計原理に波及効果のある重要な発見と言えるでしょう。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の科学研究費補助金等の支援を受けました：基盤研究 A 25251006、新学術領域研究公募研究 26102724、挑戦的萌芽研究 26670014、基盤研究 B 17H03664、X 線自由電子レーザー重点戦略課題（加藤博章）；基盤研究 S 25221203、基盤研究 S 18H05269（植田和光）；若手研究 A 24689029、基盤研究 C 17K07306（小段篤史）、若手研究 B 26840048、基盤研究 C 16K07320（山口知宏）、新学術領域研究公募研究 15H01638（木村泰久）。また、本研究は、大型放射光施設 SPring-8（課題番号：2013B1277, 2014A1163, 2014B1001, 2014B1772, 2015A1039, 2015B2039）を利用することにより行われました。

<研究者のコメント>

複雑怪奇な分子の内部に配置される原子の姿が見えて、思いもしなかった作用の仕組みが頭に浮かんできた時のワクワクは我々を虜にします。生命現象の仕組みのほとんどは未解明の謎であり、インターネットには書かれていません。学生・高校生の諸君、一緒に分子の形とその動きを解明する手法を駆使して生命の謎へ挑戦しませんか。その成果は将来きっと薬として活用されるでしょう。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Inward- and outward-facing X-ray crystal structures of homodimeric P-glycoprotein CmABCB1
（ホモ 2 量体型 P 糖タンパク質 CmABCB1 の内向型と外向型の X 線結晶構造）

著 者：Atsushi Kodan（小段篤史）、Tomohiro Yamaguchi（山口知宏）、Toru Nakatsu（中津亨）、Keita Matsuoka（松岡敬太）、Yasuhisa Kimura（木村泰久）、Kazumitsu Ueda（植田和光）、Hiroaki Kato（加藤博章）

掲 載 誌： Nature Communication DOI：10.1038/s41467-018-08007-x

<イメージ図>

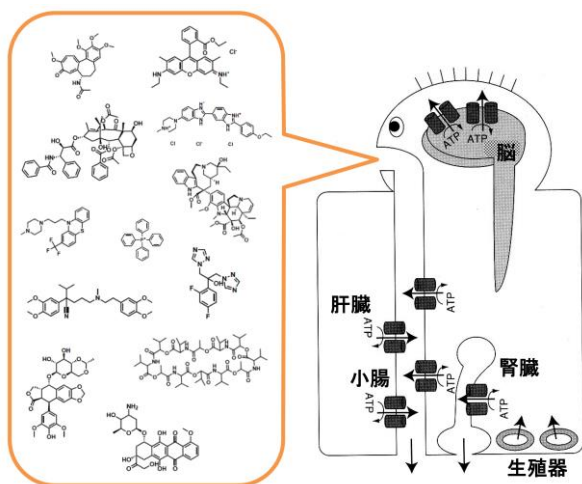


図 1 ABCB1 が排出する多様な薬の一部と ABCB1 の体内分布

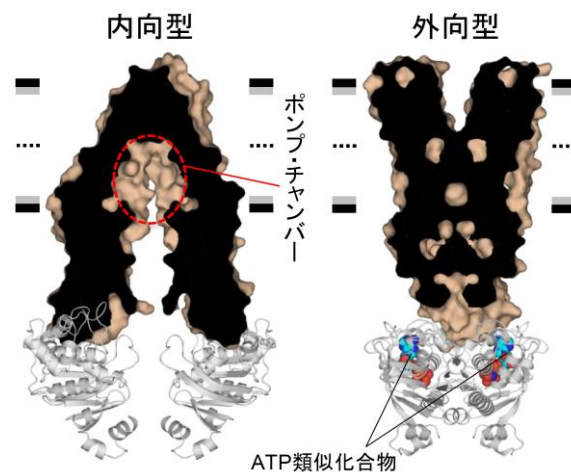


図 2 本研究で決定した ABCB1 の内向型構造 (左) と外向型構造 (右)。内向型で見られる大きな空洞 (ポンプ・チャンバー) は外向型では収縮している。

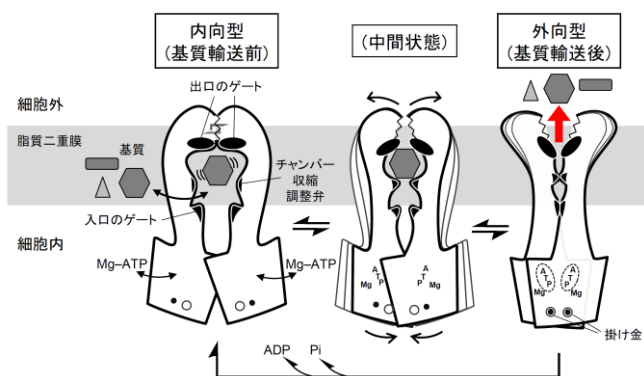


図 3 ABCB1 が多様な薬を排出できることを示した模式図。本研究によって、薬を逆流させないための装置 (チャンバー収縮調整装置と 2 つのゲート) と外向型を安定化する装置 (掛け金) が明らかになった。

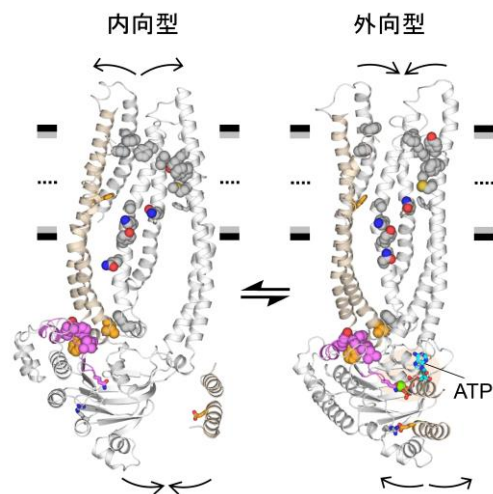


図 4 ATP の結合がポンプを駆動するための構造変化の詳細。