

薬剤耐性菌にも有効な抗生物質のヒトへの毒性を抑制

～ツニカマイシン-GPT 複合体の構造解析に成功～

ポイント

- ・抗生物質であるツニカマイシンと GPT の複合体の X 線共結晶構造解析に世界で初めて成功。
- ・解析結果に基づきツニカマイシンの構造を変え、感染症への効果を維持しつつヒトへの毒性を低減。
- ・薬剤耐性菌に対する新しい抗生物質開発の進展に期待。

概要

北海道大学大学院薬学研究院の市川 聡教授とデューク大学のシー・ヨン・リー准教授は、抗生物質に耐性がある菌にも効果が期待されるツニカマイシン類について、感染症への効果を維持しつつ、ヒトへの毒性を抑えた新しい化合物の合成に成功しました。

細菌感染症の治療に使われる抗生物質は非常に強力ですが、抗生物質の使用には、抗生物質に耐性がある薬剤耐性菌の出現が伴い、創薬の歴史は、薬剤と薬剤耐性菌の「イタチごっこ」であると言えます。薬剤耐性菌の蔓延は地球規模の深刻な問題であり、耐性菌にも有効な「最後の砦」の開発が急務です。

古くから知られている天然物の抗生物質であるツニカマイシン類は、細菌の細胞壁の構成成分であるリポド I を合成する Mray と呼ばれる酵素を阻害し、薬剤耐性菌にも有効です。しかし、ツニカマイシンはヒトの GPT と呼ばれる酵素も阻害してしまい、ヒトに毒性を示すため、これまで抗生物質として用いることができませんでした。

GPT は小胞体膜貫通型と呼ばれる酵素で、X 線構造解析が難しいタンパク質です。今回、リー准教授は、世界で初めて GPT とツニカマイシンとの複合体の結晶構造解析に成功しました。市川教授は、この複合体構造に基づいた薬物設計 (SBDD) *¹により、Mray には認識される一方 GTP には認識されない化合物を設計しました。合成した化合物は、細菌への効果 (Mray 阻害能力) を保持しつつ、ヒトへの毒性 (GPT 阻害能力) が約 1/1000 に低下していることを明らかにしました。本研究で解明された構造情報は、ツニカマイシンを基盤とした毒性の低い新しい抗生物質開発の指針となることが期待されます。

なお、本研究成果は、英国時間 2018 年 2 月 19 日 (月) 付けで Nature Structural & Molecular Biology (英国科学誌) に掲載されました。

【背景】

抗菌剤は、細菌の増殖に必要な代謝経路をターゲットにすることで、特定の細菌のみに効果を発揮します。細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカン合成は、抗生物質のよいターゲットとして知られ、これまでにペニシリンを含むβ-ラクタム系抗生物質やバンコマイシン等の抗生物質が用いられてきました。しかし近年では、既存の抗生物質では効果がない薬剤耐性菌の出現が深刻となっており、新たなターゲットを狙った新規抗生物質の開発が急務となっています。

細菌細胞壁の構成成分であるペプチドグリカン生合成のうち、リピドIを合成する酵素 MraY は、すべての細菌の生育に必要であることから、抗生物質の新たなターゲットとして期待されています。ツニカマイシン類 (図1) は、1971年に放線菌の一種から単離された天然物であり、MraYを阻害することで薬剤耐性菌を含むグラム陽性菌に対して抗菌活性を示すことが知られています。薬剤耐性菌に対する抗生物質の候補として期待されてきましたが、ヒトなどを含む真核生物*2が有するGPTという酵素を阻害することで、ヒト細胞に対する細胞毒性を示すため、これまで抗生物質に用いることはできませんでした。

酵素は、基質と呼ばれる物質と結びつき複合体を構成し、触媒として基質を変化させます。MraYとGPTは構造のよく似た反応を触媒する酵素です(図2)。ツニカマイシンがMraYやGPTを阻害するのは、MraYやGPTの基質と構造がよく似ているためなので、「MraYとツニカマイシンの複合体」と「GPTとツニカマイシンの複合体」の違いをよく調べれば、MraYとは結びつきGPTとは結びつかない化合物を設計できるようになります。MraYとツニカマイシンとの複合体は既に明らかになっていますが、GPTとどのように結合しているかは不明のままです。

【研究手法・研究成果】

今回の研究では、ヒトの酵素GPTとツニカマイシンの複合体構造解明に取り組みました。ヒトGPT遺伝子を組み込んだウイルスを昆虫細胞に感染させ、GPTタンパク質を大量発現させます。細胞をツニカマイシンで処理することでGPTとの複合体を形成させ、その複合体を細胞から取り出しました。様々な結晶化条件を検討し、分解能3.1Å(オングストローム。1Åは1mmの1/1000の1/10000)で、得られた複合体のX線結晶構造解析に成功しました。

ツニカマイシンとMraY、GPTそれぞれとの複合体構造を比較すると、MraYには基質であるPark's nucleotideのペプチド鎖を収納するスペースがありますが、GPTでは壁になっていることがわかりました。そこで、ツニカマイシンにMraYの基質であるPark's nucleotideの一部を結合させた構造へと改変した化合物を新たに設計し、化学合成しました(図3)。構造改変した化合物は、狙いどおりにMraY阻害活性を保持しつつ、GPT阻害活性が約1/1000まで低下するということがわかりました。

【今後への期待】

MraYを阻害する物質は、薬剤耐性菌に対して広く有効です。本研究で解明された構造情報は、ツニカマイシンを基盤とした毒性の低い新しい抗生物質開発の指針となることが期待されます。薬剤耐性菌に対する抗生物質開発の進展に繋がる大きな成果と言えます。

論文情報

論文名	GlcNAc-1-P-transferase-tunicamycin complex structure reveals basis for inhibition of N-glycosylation (N結合型糖タンパク質生合成阻害におけるGlcNAc-1-P-トランスフェラーゼ-ツニカマイシン複合体構造解明)
著者名	Jiho Yoo ¹ , Ellene H. Mashalidis ¹ , Alvin C. Kuk ¹ , 山本一貴 ² , Benjamin Kaeser ¹ , 市川 聡 ² , Seok-Yong Lee ¹ (¹ デューク大学医療センター生化学部門, ² 北海道大学大学院薬学研究院)
雑誌名	Nature Structural & Molecular Biology (構造分子生物学の専門誌)
DOI	10.1038/s41594-018-0031-y
公表日	英国時間2018年2月19日(月)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 市川 聡 (いちかわさとし)

T E L 011-706-3228 F A X 011-706-4980

メール ichikawa@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://japanese-apricot.pharm.hokudai.ac.jp/gouseiyaku/index.php>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【参考図】

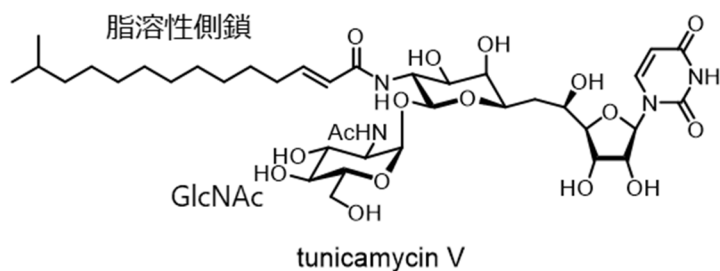


図 1. ツニカマイシン V の構造。ツニカマイシン類は脂溶性側鎖の構造が異なるものの混合物である。

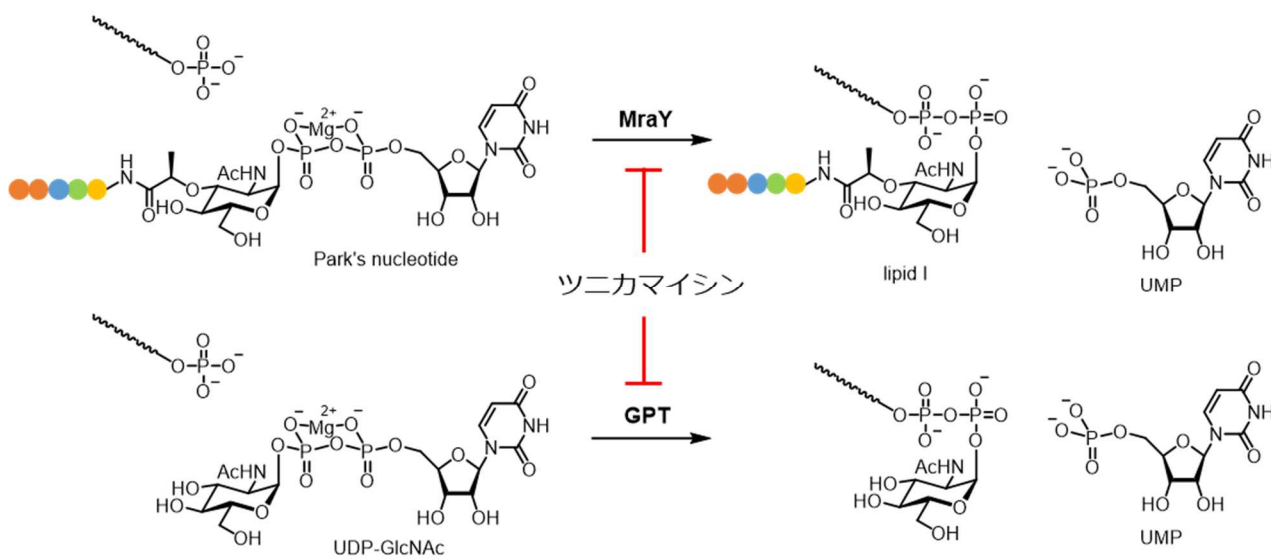


図 2. 細菌の酵素 MraY とヒトを含む真核生物の酵素 GPT は、いずれも Park's nucleotide や UDP-GlcNAc を基質とする。両者の大きな違いは、GlcNAc の 3 位から伸びるペプチド鎖 (図中でオレンジ等の丸が並んでいる部分) の有無である。MraY の阻害は抗菌活性につながり、GPT の阻害はヒトの細胞死を引き起こす。

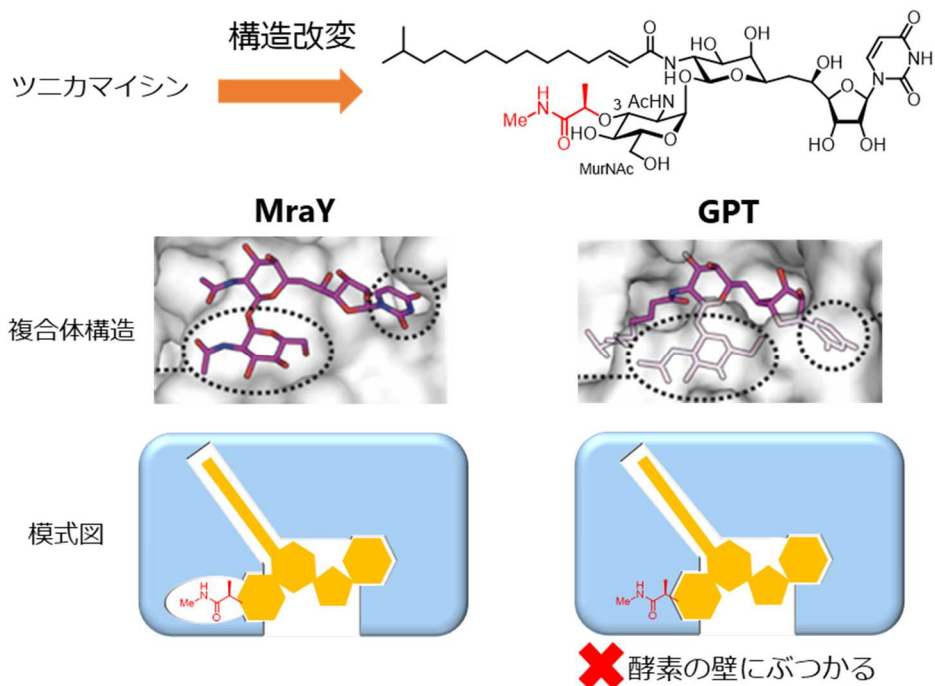


図3. ツニカマイシンと MraY の X 線共結晶構造は既に報告されており、ツニカマイシンの GlcNAc 部 3 位方向には Park's nucleotide (図1) のペプチド鎖を収納できるスペースがある。しかし、GPT ではその部位は壁になっている。新しく合成した化合物は赤色の部分が壁にぶつかるので、GPT と結合できず、ヒトへの毒性が大幅に低下する。

【用語解説】

- *1 SBDD … Structure Based Drug Design のこと。タンパク質の結晶構造から得られる三次元の構造情報をもとにして、新たな薬剤分子を設計すること。
- *2 真核生物 … 酵母、植物、動物などを含む、DNA を収納する細胞核を有する生物。生物は、核を持たない原核生物（細菌、古細菌）と核を持つ真核生物に分けられる。