



分野：自然科学系

キーワード：抗生物質、構造生物学、固体 NMR、分子動力学計算

抗生物質が効く仕組みを解明

—アムホテリシンBが真菌細胞膜に形成するチャネルの詳細構造—

【研究成果のポイント】

- ◆ 抗生物質アムホテリシン B (AmB) が真菌膜中で形成するイオンチャネルの構造を解明
- ◆ AmB は、強い抗真菌作用の一方で、腎毒性^{*1}などの強い副作用を併発する課題があった
- ◆ より効率的で副作用の少ない薬の開発につながる

❖ 概要

大阪大学大学院理学研究科の梅川雄一助教と山本智也特任研究員(現・理化学研究所基礎科学特別研究員)らは、岡山大学異分野基礎科学研究所の篠田渉教授らとの共同研究により、**抗生物質であるアムホテリシン B (AmB、図1) が真菌の細胞膜で形成するイオンチャネル複合体の構造を明らかにしました。**

この化合物は優れた抗真菌活性をもつことから、頼りになる医薬品として長年使われています。最近の例では、インドで多くの新型コロナウイルス感染者に認められた致死性のムコール症を治療するために広く用いられました。

強い抗真菌作用の一方で、腎毒性などの強い副作用を併発することが長年問題視されてきました。この問題の解決には、AmB の活性発現のメカニズムを明らかにすることが必要です。今回、共同研究グループは、有機合成化学と固体 NMR^{*2}測定、分子動力学計算^{*3}を組み合わせることで、真菌の細胞膜を模倣した環境で AmB が形成するイオンチャネル構造を明らかにしました。この成果によって、**この古いがよく効く医薬品を、新しい薬として蘇らせることができると期待されます。**

本研究成果は、米国科学誌「Science Advances」に掲載されるに先立ち、6月18日(土)付けでオンライン版として公開されます。

❖ 研究の背景

AmB は 1950 年代に発見されて以来、その抗真菌薬としての有用性から、長く真菌感染症治療に用い

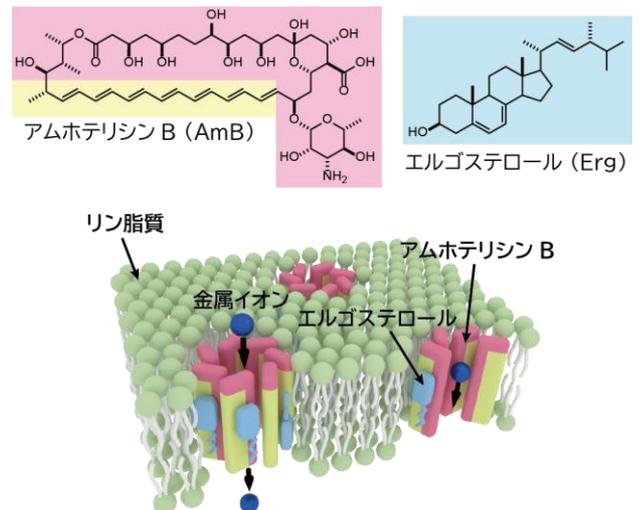


図1: AmB と Erg の化学構造(上)と、これらが真菌細胞膜中で形成するイオンチャネル構造の模式図(下)。AmB は親水的な部分(ピンク色)と疎水的な部分(黄色)を併せ持ち、親水部分を内側にして複数分子が集まることで、細胞膜に親水的な穴を形成する。この穴をカリウムイオンやナトリウムイオン(青色)が透過することで細胞のイオンバランスが崩れ、真菌を死滅させる。また、外側に位置する疎水的な部分で、Erg(水色)やリン脂質と相互作用することで、集合体を安定化する。

られています。一方で、腎毒性などの強い副作用が問題になっており、その解決には AmB の活性発現機構の詳細な解析が必要です。1970 年代に真菌膜に含まれるエルゴステロール(Erg)と共に複数のAmB分子が集合した樽板型イオンチャネルモデル構造^{※4}が活性の本体であると提唱されましたが、分子、原子レベルでその構造を解析する手段がなく、その詳細については 50 年以上にわたり不明なままでした。

❖ 研究の内容

共同研究グループでは、細胞膜環境を再現した状態で AmB 複合体の構造解析を行うため、固体 NMR の手法に着目しました。固体 NMR 測定は近年膜タンパク質の構造解析などで用いられており、細胞膜環境を再現した状態で分子の構造に関する情報を得ることができます。しかし、この測定を行うためには測定対象を ¹³C や ¹⁹F といった原子で標識する必要があります。そこで、まず生合成的手法や有機化学合成的手法により複数の標識化 AmB を調製しました(図 2A)。次にこれらの標識体を用いて固体 NMR 測定を行いました。¹⁹F-CODEX 測定^{※5}から1つのチャンネルに必要な AmB の分子数が 6~8 分子であることが分かりました。続いて REDOR 測定^{※6}により、標識した部位の距離を複数点で測定し(図 2A)、この距離情報を満たすことができる分子の配置を探索することで、AmB 複合体の構造を導きました(図 2B)。次に固体 NMR によって求められた構造が安定に存在しているのか、またイオンを透過しチャネルとしての機能を有しているのかどうかを分子動力学計算により検証しました(図 2C)。その結果、AmB 7 分子からなる AmB 複合体は1 μ s 以上の寿命で安定であること、これまでに報告されているイオンチャネル電流測定の結果をよく再現することが分かりました。加えて、多くの構造活性相関研究の結果も説明しうることが判明しました。

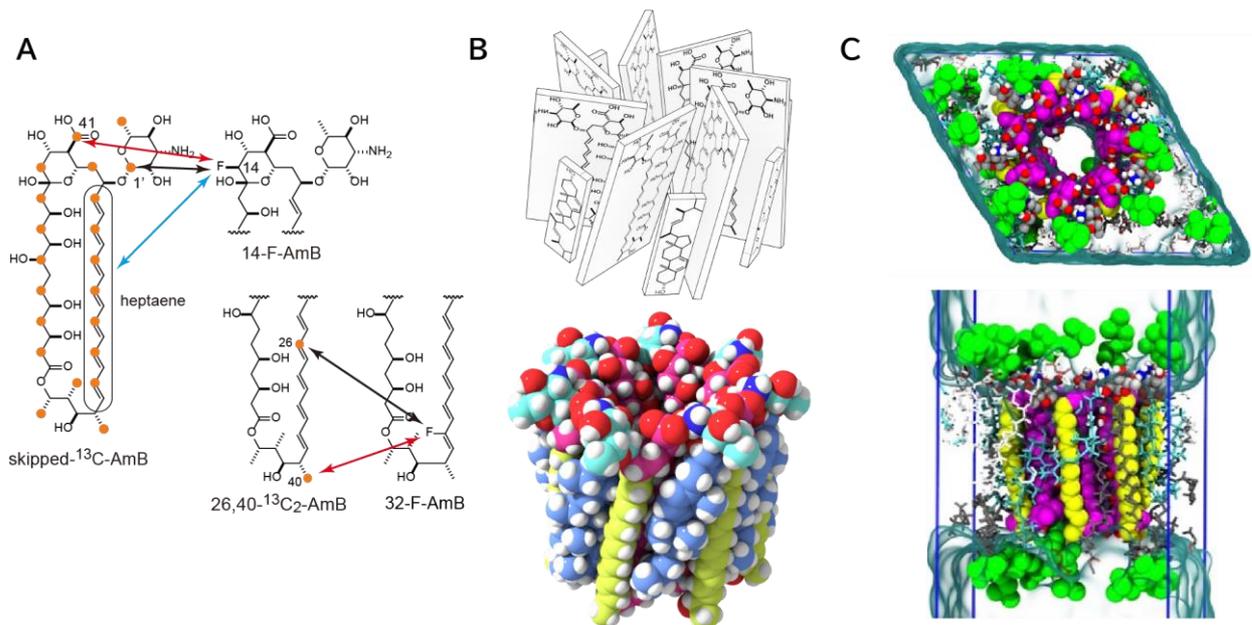


図 2: (A)複数の AmB 標識体を用いて固体 NMR 測定を行い、原子間の距離を測定した(図中の矢印の位置で距離を算出した)。(B)原子間距離情報を基に AmB 分子の配置を考え(上)、最も適した構造を導いた(下)。内部は空洞になっており、イオンの通り道がある。(C)固体 NMR 測定から得られた構造を基に分子動力学計算を行った(上:チャネルを真上から見た図。下:チャネルを横から見た図)。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究成果により、AmB の相互作用様式の詳細が明らかになったため、副作用を抑えた薬の開発の足掛かりになることが期待されます。また、本研究で用いたアプローチはこれまで解析の難しかった他の薬理活性物質の作用機構解明にも応用可能な重要な成果です。



❖ 特記事項

本研究は、2022年6月18日(土)午前3時(日本時間)に米国科学誌「Science Advances」に掲載されます。

タイトル: “Amphotericin B Assembles into Seven-Molecule Ion Channels: An NMR and Molecular Dynamics Study”

著者名: Y. Umegawa, T. Yamamoto, M. Dixit, K. Funahashi, S. Seo, Y. Nakagawa, T. Suzuki, S. Matsuoka, H. Tsuchikawa, S. Hanashima, T. Oishi, N. Matsumori, W. Shinoda and M. Murata

DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abo2658>

❖ 用語説明

※1 腎毒性

化学物質や薬剤など、何らかの物質が腎機能に障害を及ぼすことをいう。

※2 固体 NMR

核磁気共鳴の原理を利用して、分子の構造を解析する分光学的手法。溶媒に溶かすことができない試料、結晶にならない試料に有用な測定法であり、生体膜試料の解析に頻用されている。

※3 分子動力学計算

コンピュータを用いて分子の振る舞いを再現することで、実際の分子の動きや性質を予測する計算機科学の手法の1つ。

※4 樽板型イオンチャンネルモデル構造

樽の側面の木の板(樽板)のように分子が円形に整列し、中心が空洞になった集合体の構造を指す。

※5 CODEX 測定

固体 NMR の測定手法の1つで、会合体に含まれる分子数を求めることができる。

※6 REDOR 測定

固体 NMR の測定手法の1つで、標識した原子間の距離を求めることができる。

【梅川助教のコメント】

AmB は古い薬ですがなぜ効くのか詳細が分かっていないということに興味を持ち研究を行ってきました。本研究は、有機合成、分光分析、計算化学と複数の分野の知見を合わせて初めて解析可能になりました。多くの学生、先生方のご協力にこの場を借りて感謝申し上げます。

❖ SDGs目標



❖ 参考 URL

梅川雄一助教 研究者総覧 URL <https://rd.iai.osaka-u.ac.jp/ja/4788e175a48ccc54.html>

❖ 本件に関する問い合わせ先

<研究に関して>

大阪大学 大学院理学研究科 助教 梅川 雄一(うめがわ ゆういち)

TEL:06-6850-5789 FAX:06-6850-5774



岡山大学
OKAYAMA UNIVERSITY



大阪大学
OSAKA UNIVERSITY

国立大学法人 大阪大学

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-1

TEL: 06-6877-5111 (代)

www.osaka-u.ac.jp

Press Release

岡山大学 異分野基礎科学研究所 教授 篠田 渉(しのだ わたる)

TEL:086-251-7854 FAX:086-251-7699

<広報・報道に関して>

大阪大学 理学研究科 庶務係

TEL:06-6850-5280 FAX:06-6850-5288

岡山大学 総務・企画部 広報課

TEL:086-251-7292