

薬剤排出蛋白

— 細胞レベルの生体防御機構 —

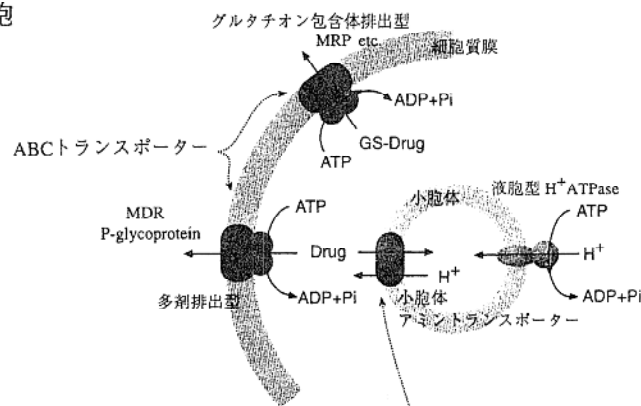


山口 明人*

Drug Export Proteins

Key Words : multidrug resistance, antiporter, ABC transporter, antibiotic resistance, chemotherapy

(A) 動物細胞



(B) 細菌細胞

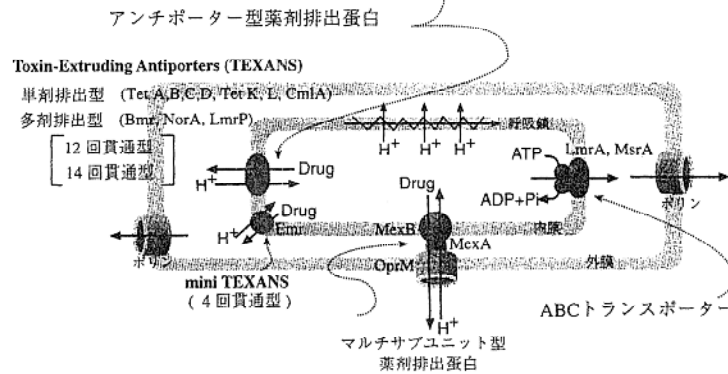


図1 生物界における薬剤排出蛋白の分布

1. はじめに

薬剤排出蛋白というものが、化学療法の現場で注目されるようになってきている。昨年は大腸菌 O-157 騒動があり、その前には多剤耐性黄色ブドウ球菌 MRSA の問題があったので、抗生物質の発達によってとくに過去の病気になったかに思われていた細菌感染症の治療になにか異変が起きているらしいことにお気づきの

*Akihito YAMAGUCHI

1948年6月25日生
 1972年東京大学理学部・生物化学科卒業、1977年東京大学大学院薬学研究所博士課程修了
 現在、大阪大学産業科学研究所、教授、薬学博士、生体情報制御学
 TEL 06-879-8545
 FAX 06-879-8549
 E-Mail akihito@sanken.osaka-u.ac.jp



方も多いと思う。実は、数年前に、ニューズウィーク誌が『バクテリアは現代医学に勝ったか』というセンセーショナルな見出しで特集を組んだ程、抗生物質の効かない細菌の出現は世界的な話題になっているのである¹⁾。

薬剤耐性菌というものは以前からあった。それは、特定の一つまたは数種の抗生物質に対する耐性菌であって、別の抗生物質を投与すればたいてい抑えることができた。ところが、最近の感染症では、どの抗生物質を試しても効かないか、効きが極端に悪いという例が多くなってきている。

これらの多剤耐性菌の耐性機構は解明されていないものが多いが、まったく新しい耐性機構として、多剤排出蛋白による耐性がかなりの部分を占めていると考えられる。

2. 薬剤排出蛋白の分布

薬剤排出蛋白として最初に同定されたのは、細菌のテトラサイクリン排出蛋白であった²⁾。その後、がん細胞にP-糖蛋白という多剤排出蛋白(MDR)がみつかり、抗がん剤耐性の原因として注目されるようになった。1990年代に入ると、病原細菌でも多剤排出蛋白が続々と発見されるようになり、薬剤排出蛋白は細菌から高等生物にいたるまで、生物界に広く分布する膜輸送体であることが明らかになってきた³⁾(図1)。排出エネルギーの面からみると、大きく2種類に分類できる。ATP加水分解を利用するABCトランスポーターには、P-糖蛋白や、グルタチオン包含体排出系であるMRP、さらにcMOATなどがあり、同様のものは細菌でも報告されている⁴⁾。もう一つのグループは、呼吸鎖やV-ATPaseなどによって作られるH⁺駆動力を利用した薬剤/H⁺アンチポーターである。これには、テトラサイクリン排出蛋白をはじめ、細菌の多剤排出蛋白の大部分が含まれる³⁾。高等生物では、このグループの薬剤輸送体は細胞内膜系に主に存在しており、exocytosisなどと連携して薬剤の排泄に関係する。

薬剤排出蛋白がいったいなぜこんなに広く分布しているのでしょうか？その本来の生理的役割はなんなのか？この点に関してはまだほとん

どなにもわかっていないという状態である。私達は、これは異物を排出することによって生体を防御する細胞レベルの機構であると考えている。生体防御機構としては免疫系が良く知られているが、これは高等動物に限定された防御系である。薬物排出蛋白は、単細胞生物をも含む普遍的な生体防御系である。

3. 薬剤排出蛋白の構造

薬剤排出蛋白は膜蛋白質である。その多くは単一のポリペプチド鎖でできている。ABCタイプのもは比較的大きく、膜を貫通する疎水的な12本の α -ヘリックスと、ATP結合部位となる大きな2個の親水性ドメインからなる基本構造をしている。一方、アンチポータータイプのもは、やはり、12本の疎水性膜貫通セグメントを持つが、親水性領域はABCタイプのように小さくなく、ATPを結合する部位を持たない⁵⁾。この、12回膜貫通構造というのは、実は薬剤排出蛋白に限らず、広く膜輸送体全体に共通してかなり強固に保存されている基本構造である。4回膜貫通型の薬剤排出蛋白もあるが、これは3個のサブユニットが集合して一単位となると信じられている。ABCタイプとアンチポータータイプではエネルギー共役機構が全く異なるにも関わらず、膜貫通部分の構造にこのように共通性が認められるのは、薬剤の膜透過機構になんらかの共通機構があることを推測させる。実際、両者の多剤排出蛋白が認識し排出する薬剤は互いに類似している。

アンチポーター型排出蛋白の構造には重要な例外がある。それは14回膜貫通型の存在である⁶⁾。驚くべきことに、グラム陰性細菌由来のテトラサイクリン排出蛋白は12回貫通型であるが、グラム陽性細菌由来のものは14回貫通型である。しかも、両者の膜輸送体としての生化学的性質にはほとんど差異がない⁷⁾。14回貫通型はテトラサイクリン排出蛋白以外にも、QacA/Bなどの多剤排出蛋白にも存在する。14回貫通構造は実験的にも証明されつつあるので、その存在は疑いないものと思われる。薬剤排出蛋白にこのような異形がなぜ可能なのか、輸送機構との関連性に興味を持たれるところである。

細菌の薬剤排出蛋白には、まったく系統の違ったものも存在する。これは、緑膿菌などの薬剤自然抵抗性との関連が注目されている MexA/B-OprM 系などで、内膜(細胞質膜)からペリプラズム、外膜にまでまたがる複数のサブユニットで構成されている⁸⁾。同様の排出蛋白は大腸菌など、グラム陰性細菌に広く報告されている。薬剤を直接外膜の外側に排出するため、ペリプラズムに標的のある β -ラクタム剤のような抗生物質に対しても耐性を示すところに特徴がある。

4. 多剤排出の分子機構

薬剤排出蛋白は生体異物排出蛋白である。異物は本来不特定なものである。薬剤排出蛋白のうちで多剤排出蛋白は、この不特定異物を認識して排出していると思われる。不特定なものを、異物として認識できるというような分子機構ははたして可能か？一つの可能性としては、異物そのものの化学構造を識別するのではなく、その存在状態ないしは存在場所によって異物を見分けていることが考えられる。生体に有用な物質の大部分はそれぞれ特異的な膜輸送担体を介して細胞内に取り込まれる。これにたいし、一部の例外を除いて、異物の多くは細胞質膜の脂質二重層部分に溶け込み単純拡散によって細胞内に侵入する。そこでもし、薬剤排出蛋白が、この脂質二重層に溶け込んだ物質を膜の外側にはじきとばす機能を持った蛋白であるとすれば、

かなり効率よく異物だけを排出することが可能であると考えられる(図2)。

このような作動モデルを vacuum cleaner-model と言い、もともと P-糖蛋白の作動機構として提唱されたものであるが、昨年、アンチポーター型多剤排出蛋白において詳細な実験的証明がなされた⁹⁾(図2)。それによると、薬剤排出蛋白は、脂質二重層の細胞質側の内層に吸着した薬剤のみを捕らえて細胞外に排出する。二重層外層に吸着した薬剤は排出の対象としていない。この機構は、フリッパーゼの機構との共通性をうかがわせる。フリッパーゼの場合は、内層にある基質を外層に転移させるが、薬剤排出蛋白の場合は内層から直接細胞膜外に移送する。

P-糖蛋白(MDR1)のホモログに MDR2 というのがあるが、MDR2 は薬剤排出蛋白ではなく、フリッパーゼである。このことも、機構の共通性という点から考えるとよく理解できる。

5. む す び

薬剤排出蛋白はがん治療や多剤耐性菌対策といった臨床面での重要性がますます増してくるばかりでなく、膜輸送体としての作動機構もきわめてユニークであり、異物認識という生物体の本質的な生理的機能とも深く関連している。さらに、最近では、ホルモン分泌などとの関連も示唆されており、今後、本来の生理的役割の解明が進むにつれて、細胞の情報制御機構をはじめとするいろいろな局面への関わりが明らかになるものと思われる。膜輸送体の研究の中では最も新しい対象であり、研究はまだ緒にたばかりで、今後の発展が大きく期待される分野である。

参 考 文 献

- 1) Sharon Begley : The End of Antibiotics. バクテリアの逆襲, Newsweek (1994年3月30日号), pp.66-73 (1994)
- 2) McMurry, L., Petrucci, R. E. Jr. and Levy, S. B. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 3974-3977 (1980)
- 3) Levy, S. B. : *Antimicrob. Agents Chemother.* 36, 695-703 (1992)

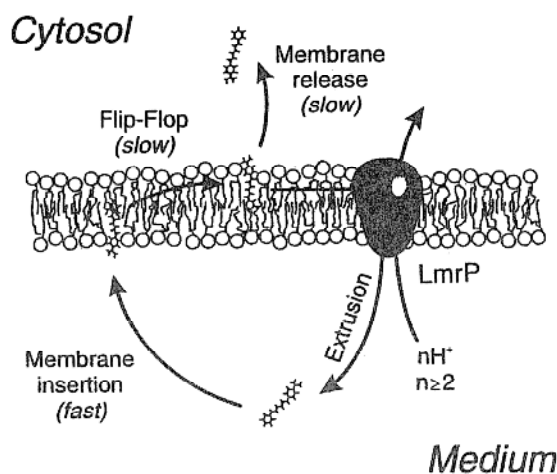


図2 多剤排出蛋白の薬剤排出機構 (Vacuum cleaner model). 文献9より引用。

- 4) Hendrik, W. V., Venema, K., Bolhuis, H., Oussenko, I., Kok, J., Poolman, B., Driessen, A. J. M. and Konings, W. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 10668-10672 (1996)
- 5) Eckert, B. and Beck, C. F. : *J. Biol. Chem.* 264, 11663-11670 (1989)
- 6) Paulsen, I. T., Brown, M. H., Littlejohn, T. G., Mitchell, B. A. and Skurray, R. A. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 3630-3635 (1996)
- 7) Yamaguchi, A., Shiina, Y., Fujihira, E., Sawai, T., Noguchi, N. and Sasatsu, M. : *FEBS Lett.* 365, 193-197, (1995)
- 8) Nikaido, H : *J. Bacteriol.* 178, 5853-5859, (1996)
- 9) Bolhuis, H., van Veen, H. W., Brands, J. R., Putman, M., Poolman, B., Driessen, A. J. M. and Konings, W. : *J. Biol. Chem.* 271, 24123-24128 (1996)

