

## P糖タンパク質のメカニズムから薬物動態の 分子構造基盤をさぐる

京都大学 大学院薬学研究科・教授・加藤博章

近年、受容体やトランスポーターなど膜に埋め込まれたタンパク質の立体構造研究が盛んになり、薬理的な作用を立体構造に基づいて議論することが可能になってきた。このような状況の中、2012年にはGタンパク質共役型受容体(GPCR)の研究にノーベル化学賞が授与されただけでなく、多種多様なGPCRについてすでに100を超える立体構造がProtein Data Bankに登録されており、誰でも立体構造を調べることが可能となっている。今や $\beta$ 2アドレナリン受容体では、受容体の分子構造を基にアゴニストとアンタゴニストの違いはもちろん、完全アゴニストと部分アゴニストあるいは逆アゴニストの作用メカニズムの違いも立体構造から理解できたといえる<sup>(1)</sup>。ただし、薬の効力を理解するためには、さらに薬物の体内動態の分子基盤を解明することも不可欠である。リピンスキー則などの経験則に依存してきた曖昧な「薬らしさ」の概念に分子構造基盤を与えることができれば、創薬の設計指針を改革することにも寄与するだろう<sup>(2)</sup>。そこで、BサブファミリーのATP Binding Cassette(ABC)トランスポーターに属するP糖タンパク質(ABCB1)の多剤排出作用に着目した。

ABCトランスポーターは、自らATPを加水分解して得られるエネルギーを用いて化合物を能動輸送する膜貫通型のタンパク質である。ABCB1は、小腸、血液脳関門、肝臓、腎臓、生殖器に多く発現して、体外から侵入する多種多様な化学構造の異物から生体を防御している。しかし、一方で投与した「薬」も排出してしまうことから薬物の吸収を低下させる原因となっている。特に、癌細胞がABCB1を過剰発現させることで多剤耐性を獲得してしまうことは、癌化学療法における最大の障害となっている。したがって、ABCB1による排出されやすさが、薬物の吸収されやすさの決定要因となっていると言っても過言ではない。すなわち、ABCB1の多剤認識と排出作用の分子構造基盤を明らかにすれば、薬物動態要因の分子基盤解明に至ることが期待できる。そのためには、精度の高い結晶構造とそれに基づいた作用機構の解析が必要である。我々は、ヒトABCB1と構造および機能が良く似たホモログを好熱性真核生物*Cyanidioschyzon merolae*から発見し、その結晶構造を最高2.4 Å分解能で決定した<sup>(3)</sup>。さらに、細胞膜外から作用するという新規で、しかもCmABCB1に特異的な阻害剤を創製することに成功した<sup>(3)</sup>。しかし、ABCB1の作用機構(図1)を明らかにするためには、多剤の排出ポンプメカニズムを捉える必要がある。

半世紀以上前に、膜を介して基質を輸送するトランスポーターのメカニズムについては、交互アクセスモデルが提唱されていた<sup>(4)</sup>。すなわち、トランスポーター分子は、1)分子内部に輸送する物質が通りうる隙間があり、2)その「隙間」が生体膜を隔てて外側に開いている外向型

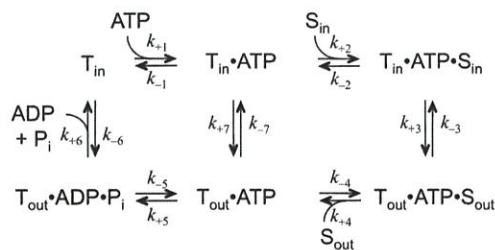


図1 ABCB1作用の予想メカニズム

$T_{\text{in}}$ と $T_{\text{out}}$ は、内向型と外向型状態のABCB1。 $S_{\text{in}}$ と $S_{\text{out}}$ は、細胞内側から入る基質と細胞外側へ出る基質。

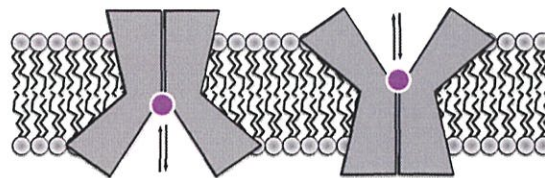


図2 トランスポーターの交互アクセスモデル

構造と内側に開いている内向型構造の2つの異なるコンフォメーション状態を取りうる、そして、3) 分子内の「隙間」には輸送する物質の結合部位をもち、2つの状態間で異なる親和性をもつというものである。この10年ぐらいの間に実際のトランスポーターで結晶構造が決定され、ロッカースイッチモデル(rocker-switch model)と呼ばれる、公園に置かれているシーソーのような剛体の往復運動(立体構造変化)によって内向型と外向型の構造変化が起こり、膜内外の基質との相互作用と基質輸送を行うと説明されて来た<sup>(5)</sup>(図2)。しかし、このモデルでは、ABCB1の多剤排出ポンプとしての2つの機能が説明できない。すなわち、多剤認識と能動輸送への対応である。単純に内向と外向の状態を変化させるだけで、分子の大きさや形状の異なる基質を全て輸送することは可能だろうか。多様な基質の大きさに応じて基質結合部位を細胞内外へ開くだけでは、一旦排出した基質の逆戻りを防ぐことは困難ではなかろうか。

では、多剤排出ポンプに必要なこれら2つの機能にはどのような構造が必要なのだろうか。例えば心臓では、収縮と拡張を繰り返してポンプ内空の容積を変化させる仕組みと、逆流を防ぐために交互に開閉する複数の逆止弁を持っている。実は、CmABCB1の内向型と外向型、両状態の結晶構造を比較したところ、まるで心臓のような、タンパク質内部の空洞を収縮・拡張する仕組みと基質の入口出口に2つの逆止弁構造を備えていることが見えて来た。本講演では、それら仕組みについて紹介し、多剤排出と能動輸送との関係を議論する。

#### 参考文献

- (1) Ring, A. M., *et al.* (2013) *Nature* **502**, 575–579.
- (2) Leeson, P. D. (2016) *Adv Drug Deliv Rev* **101**, 22–33.
- (3) Kodan, A., *et al.*, (2014) *Proc Natl Acad Sci USA*, **111**, 4049–4054.
- (4) Jardetzky, O. (1966) *Nature* **211**, 969–970.
- (5) Krishnamurthy, H., *et al.*, (2009) *Nature* **459**, 347–355.

## 略歴

- 1983年 山形大学農学部農芸化学科 卒業
- 1985年 山形大学大学院農学研究科農芸化学専攻修士課程 修了
- 1988年 京都大学大学院農学研究科農芸化学専攻修了 農学博士
- 1988年 京都大学化学研究所 教務職員（文部技官）
- 1989年 京都大学化学研究所 助手
- 1992年 米国 Brandeis University 訪問研究員（文部省在外研究員）1993年まで
- 1999年 理化学研究所・播磨研究所速度論的結晶学研究チーム・チームリーダー  
2006年3月まで
- 2002年 京都大学大学院薬学研究科構造生物薬学分野 教授（現職）
- 2006年 理化学研究所客員主幹研究員

## 受賞

- 1994年度 日本農芸化学会奨励賞

## 所属学会

日本薬学会、日本結晶学会、日本生物物理学会、日本蛋白質科学会、日本農芸化学会