

氏名	やまもと しょうご 山本省吾
学位(専攻分野)	博士(学術)
学位記番号	博甲第394号
学位授与の日付	平成17年7月25日
学位授与の要件	学位規程第3条第3項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 機能科学専攻
学位論文題目	酵母薬物排出トランスポーター、Pdr5pの阻害物質に関する研究 (主査)
審査委員	教授 小田耕平 教授 原田繁春 教授 伊倉宏司

論文内容の要旨

ヒトの死因の一位はガンであり、抗ガン剤投与による化学療法中に、ガン細胞は複数の薬剤に耐性となる。これを多剤耐性と呼ぶ。多剤耐性の原因は、薬物が異物として認識され、薬剤排出ポンプ(薬剤排出トランスポーター)によって細胞外へ排出されることにある。薬剤排出ポンプの機能を阻害する物質が取得されれば、それは新しい視点からの抗ガン剤となる。

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、ヒト由来の薬物排出ポンプ Mdr1p と類似した薬剤排出ポンプ Pdr5p を有する。申請者の研究目的は、平賀、小田により開発された酵母アッセイ系を利用して、①細胞毒性のない抗ガン剤の開発、②薬剤排出機構解明に有効な物質の開発、を行うことである。

申請者は、約 10,000 株の微生物分離株を対象に検索し、Pdr5p 阻害物質生産菌 2 株を分離した。それらは、それぞれ *Fusarium* sp. Y-53 株、および *Trichoderma* sp. P24-3 株と同定された。両菌株が培養液中に生産する Pdr5p 阻害物質を精製し、構造解析を行った。Y-53 株の有効物質は、抗生物質 enniatin B, D, B1 と同一、また、P24-3 株の有効物質は、抗生物質 3-(3'-isocyano-cyclopent-2'-enylidene) propionic acid(略称: isonitrile)と同一であると判明した。Enniatin B, D, B1 は、いずれも細胞毒性がなく、0.5 µg/ml (0.78 µM) の濃度で Pdr5p による薬剤排出を 80%以上阻害し、既知の Pdr5p 阻害物質 FK506 よりも強い阻害活性を示した。一方、isonitrile は、enniatin と異なり弱い細胞毒性を示した。また、isonitrile のカルボキシル基は Pdr5p の阻害に必須であることを明らかにした。

Enniatin による Pdr5p 阻害様式は、enniatin が Pdr5p の基質となることより競合阻害であると推察された。一方、isonitrile による阻害様式は enniatin とは異なると推察された。また、両化合物の阻害様式が異なることは、Pdr5p 部位特異的改変体(S1360A, S1360F) や、病原性真菌 *Candida albicans* の薬剤排出ポンプ Cdr1p, Cdr2p に対する両化合物の阻害効果の違いからも確認された。

以上の研究により、①抗生物質として得られた enniatin と isonitrile が Pdr5p を阻害するという新規な機能を有すること、また、②両化合物の Pdr5p や Cdr1p, Cdr2p に対する阻害様式は互いに異なること、などを明らかにした。今後はこれらの研究成果を基盤として、enniatin と isonitrile による Pdr5p 阻害機構の解明と、更には、細胞毒性のない抗ガン剤開発に応用されることが期待される。

論文審査の結果の要旨

ガン細胞は、抗ガン剤による化学療法中に複数の薬剤に耐性となる。この多剤耐性の一因は、薬剤排出ポンプ（薬剤排出トランスポーター）による抗ガン剤の排出である。この薬剤排出ポンプの機能を阻害する物質は、新しい視点からの抗ガン剤になると期待される。

申請者は、酵母の薬物排出ポンプ Pdr5p を用いた迅速、且つ、高感度な検索系を利用して、約 10,000 株の微生物培養液から Pdr5p 阻害物質生産菌 2 株を分離し、それらを *Fusarium* sp. Y-53 株、及び、*Trichoderma* sp. P24-3 株と同定した。また、両菌株が生産する薬剤排出ポンプ阻害物質を精製し、構造解析を行った。Y-53 株の有効物質は、抗生物質 enniatin B, D, B1 と同一、また、P24-3 株の有効物質は 3-(3'-isocyano-cyclopent-2'-enylidene) propionic acid (略称:isonitrile) と同一であった。しかし、これらの物質が薬剤排出ポンプ Pdr5p の機能を阻害することを発見したのは、これが初めてである。

Enniatin は、細胞毒性がなく、その Pdr5p 阻害様式は、enniatin が Pdr5p の基質となることより競合阻害であると推察した。一方、isonitrile は弱い毒性を有し、enniatin とは異なる阻害様式を示した。Enniatin と isonitrile の阻害様式が異なることは、Pdr5p の部位特異的変異体 (S1360A, S1360F) や、病原性真菌 *Candida albicans* の薬剤排出ポンプ Cdr1p, Cdr2p に対する阻害効果からも確認された。

以上、申請者は①抗生物質として得られた enniatin と isonitrile が Pdr5p を阻害するという新規な機能を有すること、また、②両化合物の Pdr5p や Cdr1p, Cdr2p に対する阻害が互いに異なること、などを明らかにした。これらの研究成果は画期的なものであり、Pdr5p の機能解明と共に抗ガン剤の開発につながることが期待される。

これらの研究成果は、国際的に評価の高い学術雑誌 2 編に公表されている。

[公表論文]

- (1) **S. YAMAMOTO**, K. HIRAGA, A. ABIKO, N. HAMANAKA, and K. ODA, A new function of isonitrile as an inhibitor of the Pdr5p multidrug ABC transporter in *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 330, 622-628 (2005).
- (2) K. HIRAGA, **S. YAMAMOTO**, H. FUKUDA, N. HAMANAKA, and K. ODA, Enniatin has a new function as an inhibitor of Pdr5p, one of the ABC transporters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 328, 1119-1125 (2005).