

抗酸菌のホスファチジルイノシトールリン酸合成酵素の阻害剤： イノシトール 1 リン酸構造類似体

森井 宏幸¹・岡内 辰夫²・小川 みどり³・福田 和正³・谷口 初美³

産業医科大学・医学部・¹生体物質化学、³微生物学、²九州工業大学・応用化学

〒807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1

E-mail: h-morii@health.uoeh-u.ac.jp

最近、我々は抗酸菌のホスファチジルイノシトール(PI)の合成経路が、従来報告されているものとは異なる事を明らかにした。抗酸菌ではイノシトール 1 リン酸と CDP-ジアシルグリセロールが反応してリン酸が 1 つ余分についた中間体ホスファチジルイノシトールリン酸(PIP)を生成し、その後リン酸がとれて、PI を生成する。この経路中の PIP 合成酵素が新しい抗酸菌症治療薬の標的になると考えた。PIP 合成酵素の基質であるイノシトール 1 リン酸の構造類似体が本酵素の阻害剤になると予想して 4 種類の化合物を合成した。合成品の中で最も阻害効果が高かったのは化合物 Ino-C-P であった。興味深い事に、この Ino-C-P を PIP 合成酵素が本来の基質と同様に利用し、正常な生成物 PIP の構造類似体である PI-C-P を生合成した。さらに、PI-C-P は Ino-C-P より低濃度で PIP 合成酵素活性を阻害した。

1. はじめに

世界の人口の約 3 分の 1 が結核に感染しており、新規結核患者数は年間約 900 万人、死亡者数は年間 120-150 万人である。結核の治療にはイソニアジド、リファンピシン、ストレプトマイシンなどの抗結核薬が用いられる。しかし、近年、抗結核薬に対する多剤耐性菌の増加が問題となっている。新規抗結核薬は、50 年間創出されていない。いくつかの候補薬が開発中であるが、いずれもその標的部位は従来の抗結核薬と同じであり、新規の化学構造と新たな作用機序を有する抗結核薬の開発が待たれている状況である。

最近、我々は抗酸菌 PI の合成経路が、従来報告さ

れているものとは異なる事を明らかにした[1]。すなわち、抗酸菌ではイノシトール 1 リン酸と CDP-ジアシルグリセ

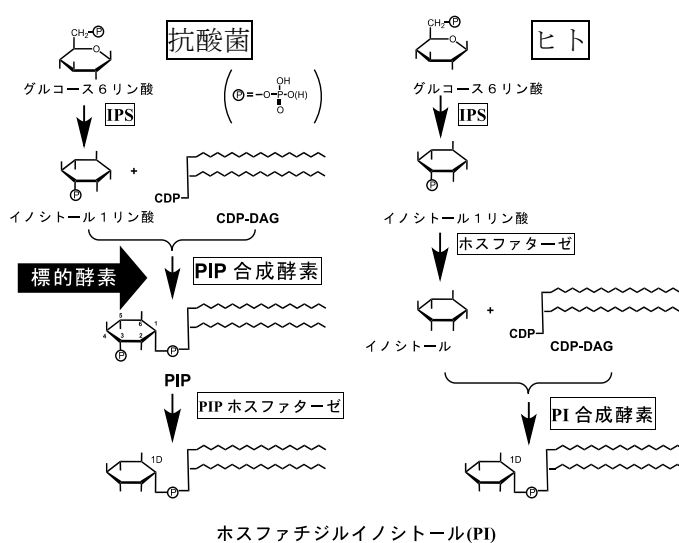


図 1. 抗酸菌とヒトの PI 合成経路の違い

ロール(CDP-DAG)が反応してリン酸が1つ余分について中間体ホスファチジルイノシトールリン酸 (PIP) を生成し、その後リン酸が取れて、PI を生成する。ヒトではイノシトールが CDP-DAG と反応するので、PI の生合成過程で PIP はできない(図 1)。抗酸菌の PIP 合成酵素を阻害する物質を見つけることができれば、ヒトには影響せず結核菌の増殖を特異的に阻害できる薬剤の開発につながる。

2. 方法

PIP 合成酵素の基質であるイノシトール 1 リン酸の構造類似体が本酵素の阻害剤になると予想して 4 種類の化合物(Ino-C-COOH、Ino-C-OSO₂NH₂、Ino-C-P(OEt)₂、Ino-C-P) を合成し、結核菌の PIP 合成酵素活性への影響を調べた。

抗酸菌 *Mycobacterium smegmatis* を用いて、微量液体希釈法により、合成化合物の増殖阻害実験を行った。

3. 結果と考察

合成品のすべてが酵素活性を阻害する事を確認した。その中で最も阻害効果が高かったのは、化合物 Ino-C-P(図 2) であり、IC₅₀ は 2 mM であった。興味深い事に、この Ino-C-P を PIP 合成酵素が本来の基質と同様に利用し、正常な生成物 PIP の構造類似体である PI-C-P(図 2)を生合成した。さらに、PI-C-P は低濃度(0.25 mM)で PIP 合成酵素活性を 45% 阻害した。

増殖阻害については、5 mM 以上の Ino-C-P(OEt)₂ と、25 mM 以上の Ino-C-P が、*M. smegmatis* の増殖を阻害することを確認した。しかし、2.5 mM PI-C-P には増殖阻害効果が観察されなかった。

Ino-C-P はIno-C-P(OEt)₂と比べて、酵素活性阻害効果は高かったが増殖阻害効果は低かった。これは極性の高い Ino-C-Pが菌体内に入りにくい事を意味するのだろう。

PI-C-Pは、2本の長い脂肪酸を含む大きな分子であるために菌体に取り込まれなかったと思われる。PI-C-Pの増殖阻害効果は確認できなかったが、菌体に入りやすい類似構造の化合物を合成すれば、それが増殖阻害剤になる可能性はある。抗酸菌の細胞壁は脂質に富み、PIP合成酵素が膜酵素である事から阻害剤は脂溶性の方が有利とも考えられる。

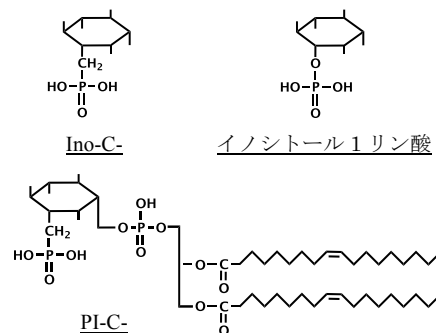


図 2. Ino-C-P と PI-C-P の構造

4. 今後の展望

本研究で、まったく新しい機序による抗結核薬探索の手法を提言した。PI を含む真正細菌は、放線菌など抗酸菌類縁の有効な治療薬の少ない細菌に限られている。これらの抗酸菌類縁菌に対する薬剤のスクリーニングおよび開発にも本手法が応用できる。さらに、PI の分布は、少数の真正細菌に限られているので、ヒトの体内に必要な常在細菌叢には影響のない、抗酸菌特異的な薬剤を創薬できると期待できる。今回、いくつかの酵素活性阻害剤と抗酸菌の増殖阻害剤を見つけたが、その有効濃度は高かった。そこで、さらにいくつかの阻害剤候補化合物を推定した。これらの有機合成には、高度な合成技術を有する製薬企業等との連携が必要となってくる。

参考文献

- [1] Morii H, *et al.*: J. Biochem., 148, 593-602 (2010)