

ERATO 研究領域「村田脂質活性構造」プロジェクト 追跡評価報告書

1. 研究成果の発展状況や活用状況

本プロジェクトの目標は、戦略目標「生命システムの動作原理の解明と活用のための基盤技術の創出」のもと、脂質分子の構造解析を通じて、機能分子である膜脂質や膜タンパク質の構造や動態を解明するための学術的基礎を形成し、究極的には創薬研究において利用可能な情報と科学手法を確立することであった。

本プロジェクトでは、脂質膜のマイクロドメイン、タンパク質内部脂質、膜タンパク質周辺脂質の3つの研究目標が設定され、3研究グループが設置、運営され、相互に連携しながら研究が進められ以下のような研究成果が得られた。

- 膜タンパク質周辺脂質について実験手法を確立し構造を解析した。位置特異的に同位体修飾した脂質の固体 NMR を測定して脂質二重膜上に形成される脂質ラフト分子基盤を解明した。
- 水に溶けない脂質がタンパク質に結合する際の親和性を測定する技術を開発して膜タンパク質-疎水性リガンドの相互作用を解析した。また、新開発の蛍光プローブを用いて、脂質ラフト特異的なタンパク質・脂質相互認識を観察した。
- 極低温と室温では異なる脂質リガンドの三次元構造と運動性を評価するために、フレキシブルな脂質の構造を正確に決定する方法を、SPring-8 および SACLA を利用して単結晶 X 線回折を中心に確立した。

本プロジェクト終了後も研究参加者は、科研費・挑戦的萌芽研究、科研費・基盤研究、科研費・新学術領域研究などの競争的資金を獲得し、本プロジェクトの研究成果を基に研究を進展させている。脂質ラフトでは、微細構造の研究へと発展させるとともに、膜作用分子の構造と機能の解明のために合成化学を駆使した研究を展開している。また、生体膜中で働く天然生理活性物質を用いた創薬への展開を想定した研究を推進し、アンフォテリシン B、アンフィジノール 3 など脂質膜を作用部位とする生理活性物質の構造と機能の解明で成果をあげている。

本プロジェクトで立ち上げた「活性脂質構造学」という新しい研究分野が、本グループを中心に切り拓かれつつあると言え、今後の更なる展開が期待される。研究成果の発展においても、これまで困難であった創薬標的に対する構造生物学的アプローチから創薬スクリーニングへの応用が期待される。

2. 研究成果から生み出された科学的・技術的および社会的・経済的な波及効果

(1) 研究成果の科学的・技術的観点からの貢献

本プロジェクトでは脂質・タンパク質、あるいは膜タンパク質に存在する脂質膜の構造解析にチャレンジしたこと、手法としてNMR、特に、固体NMRやラマン分光解析を活用したこと、また、それらの構造解析に有機合成化学を利用したこと、さらにコンピュータシミュレーションを応用したことが特長である。

細胞膜の研究は多数あるが、多くはタンパク質や細胞間のシグナルの変化を物理的にマクロに見るといった観点の研究が主流になっていた。脂質分子の標識体を合成して膜中での構造を解析するという、化学をベースにした構造解析研究の脂質構造解明への貢献は世界的に認識されつつある。元来、細胞膜の分野で脂質分子の構造研究は主流ではなかったが、本プロジェクトが「活性脂質構造学」という新しい分野を開拓することにより学術的に貢献した。

脂質を含めた膜タンパク質—脂質複合体に関する脂質相互作用解析から、細胞膜に存在する受容体タンパク質を介する情報伝達における脂質の役割の解明に繋がっている。具体的には、蛍光標識した新規なスフィンゴミエリンプローブや、diyne 脂質は脂質ドメイン解析のための有効なツールとなることが期待される。本プロジェクトで開発されたリンカーを入れた蛍光脂質分子は研究者等に提供されて他の研究にも貢献している。

また、新たに化学合成された種々の脂質類似体は、それ自身で脂質ドメインの研究に有効なツールになることが期待され、脂質膜中にタンパク質が存在する生体膜研究を大きく進展させた。具体的な応用例として、抗真菌剤アンフォテシリンが真菌の細胞膜の合成阻害に関する作用機序を高い精度で解析したり¹、代表的な膜タンパクであるバクテリオロドプシンを用いて膜タンパク特異的な膜脂質のスクリーニング系を開発し、その報告を引用して新規物質が発見される²など有用な技術として実用化されて、国際的にも高い評価を受けている。

(2) 研究成果の社会的・経済的観点からの貢献

本プロジェクトは、細胞膜内の分子集合体の構造解析という困難な課題にチャレンジする基盤研究であるが、本プロジェクトの要素技術が発展し、解析法が進歩して汎用されるようになれば、より選択的な医薬の創出に資することが期待される。また、脂質二重膜の構造・機能の分子動力学(MD)シミュレーションによる予測は医薬品開発研究に大きく貢献することが期待される。

本プロジェクトの期間中および終了後の研究で脂質二重膜の分子構造や運動性を原子レベル、ナノ秒速度で実験的に解明することにより、重要なパラメータを得た。その結果、細胞膜を含めた脂質二重膜の構造・機能をMDでかなり正確に予測できるようになり、脂質二

¹ Analytica chimica acta, 1059, 103-112.

² ACS chemical biology, 15(1), 197-204.

重膜の構造・機能の MD 予測に基づく創薬研究の端緒を開いた。また、脂肪酸結合膜タンパク (FABP) サブタイプに特異的な簡易蛍光法による阻害剤スクリーニング法の開発に成功し、いくつかの FABP 阻害剤がスクリーニングされたことから、創薬研究への貢献が期待される。

構築された基盤技術を使って、他の研究機関と相互補完的に創薬への展開を想定した共同研究は、プロジェクト終了後に増加している。プロジェクト中のものも含め次のようなものがある；ジブカインなど局所麻酔剤の作用機構(ラフト構造の破壊)、GPI アンカー型タンパク質 CD59 のラフト内挙動の観察(スフィンゴミエリンとの過渡的結合)、免疫細胞活性化物質ガラクトシルセラミド KN7000 と抗原提示タンパク質 CD1d の複合体の精密構造解析(X線解析)、糖脂質ガングリオシド GM3 の標的膜タンパク質との相互作用解析(細胞増殖抑制)、臨床用抗真菌物質アンフォテリシン B が細胞膜に作るイオンチャネルの構造解析、およびその他の膜作用物質の活性発現機構の解析；抗真菌活性、溶血活性を有する海産天然物アンフィジノール 3 の活性発現機構(脂質膜細孔生成機構)、植物由来サポニン OSW-1 の脂質膜の破壊機構の解析、細胞膜作用物質セオネラミドや ATPase 阻害物質バフィロマイシンの活性発現機構。これら研究の成果は、多様な生物が生産する天然物や医薬品に対する脂質やタンパク質からなる集合体という分子標的の解明に繋がり、さらにはそうした分子標的に作用する医薬品開発に寄与するものと考えられ、社会的・経済観点からの貢献にあたる。

企業と共同で実用化に挑戦している例として、杉山は新規なアガロースゲル中でのタンパク質の結晶化技術について、創薬スクリーニングに応用すべく、創晶やクニムネとの共同開発を行っている。松岡は大分大学着任後、狂犬病の予防・治療薬の創薬に協力し、大分大学とベンチャー企業「大分大学先端医学研究所」が出願人となって特許出願している。松岡はまた、理化学研究所脳神経科学研究センター前川素子らの共同研究グループの統合失調症の新たな治療標的の発見(核内受容体 PPAR α)にも協力した。

社会的観点において、研究者のキャリアパス支援、人材育成については、自立に向け、特任教員として教育経験をさせ、科研費の申請資格を取得させるなどにより、グループリーダーの 2 名は特任教授、教授に昇進し、上記で述べたように研究成果の応用や社会実装に向けた技術開発に取り組んでいる。プロジェクト研究員 11 名のうち、助教 2 名および公的研究機関の研究員 7 名が研究を継続している。国際共同研究も継続しており、フィンランドの大学をはじめ、論文発表や人材交流などを行っている。

以上により、本研究プロジェクトは研究成果の発展や活用が認められ、科学的・技術的および社会的・経済的な波及効果が十分に生み出されている。

以上