

高島 成二

大阪大学大学院生命機能研究科/医学系研究科  
教授

## 新たな臓器保護剤の開発に向けた ATP 産生制御の構造生命科学

### § 1. 研究実施の概要

動物の活動においてもっとも重要なエネルギー源である ATP は、ミトコンドリアで酸化的リン酸化と呼ばれる化学反応によって合成されます。その合成過程においては、まず電子伝達系と呼ばれる電子伝達とプロトン輸送を共役させる分子群が働きます。電子伝達によって作成されたミトコンドリア内膜内外でのプロトン濃度勾配は、ATP 合成酵素の回転エネルギーに変換され ATP が合成されます。

研究代表者らは、この酸化的リン酸化酵素システムを活性化させる分子である HigD1 と Gos2 を発見しました。HigD1 は電子伝達の最終課程である Cytochrome c oxidase (以下 COX と略す)に、Gos2 は ATP 合成酵素に直接結合し、それぞれを活性化させます。本研究課題では、この 2 つの酸化的リン酸化活性化タンパク質の作用メカニズムを分子構造的に解明し、酸化的リン酸化酵素を創薬標的とした新たな治療薬開発を目的としています。

平成 30 年度は、HigD1 と同様に COX の活性を変化させる化合物を同定し、これらの化合物による COX の構造変化を解析しました。結果、COX 阻害剤の投与によりプロトン輸送経路と考えられている 2 か所が構造変化をきたすことを明らかにしました。この事実は、いまだ議論的であるプロトン輸送経路の存在場所を明らかにしたのみでなく、この部位が COX 全体の活性を調節できる構造基盤を持つことが示されました。さらに、哺乳類の COX にあたる微生物の終末オキシダーゼでも同様の活性調整部位が構造的に保存されていることを見出し、COX 阻害剤を抗微生物薬として開発するアイデアにつながりました。

本研究課題では、これらの化合物を利用した創薬開発をすすめました。上記した HigD1 と同様の機能を示す COX のアロステリック活性化剤、Gos2 と同様の機能を示す ATP 合成酵素活性化剤は得られた構造情報をもとに化合物展開をすすめ生体外・生体内での薬効が証明されました。また細菌類の終末オキシダーゼに対する阻害剤の開発も抗菌活性が確認されました。最終年度は、本研究課題のテーマである分子構造を利用した創薬展開をより現実的なものにする所存で

す。

代表的原著論文

1. Yamada N, Asano Y, Fujita M, Yamazaki S, Inanobe A, Matsuura N, Kobayashi H, Ohno S, Ebana Y, Tsukamoto O, Ishino S, Takuwa A, Kioka H, Yamashita T, Hashimoto N, Zankov DP, Shimizu A, Asakura M, Asanuma H, Kato H, Nishida Y, Miyashita Y, Shinomiya H, Naiki N, Hayashi K, Makiyama T, Ogita H, Miura K, Ueshima H, Komuro I, Yamagishi M, Horie M, Kawakami K, Furukawa T, Koizumi A, Kurachi Y, Sakata Y, Minamino T, Kitakaze M, Takashima S.

“Mutant KCNJ3 and KCNJ5 Potassium Channels as Novel Molecular Targets in Bradyarrhythmias and Atrial Fibrillation.” Circulation Vol.139, No.18, 2157-2169,2019

2. Nagao T, Shintani Y, Hayashi T., Kioka H., Kato H., Nishida Y., Yamazaki S., Tsukamoto O., Yashirogi S., Yazawa I., Asano Y., Itoh K., Imamura H., Suzuki T., Suzuki T., Goto Y., Seiji Takashima

“Higd1a improves respiratory function in the models of mitochondrial disorder”

The FASEB Journal (in press) 2019

## § 2. 研究実施体制

### (1)「高島」グループ

① 研究代表者:高島 成二 (大阪大学生命機能研究科、教授)

② 研究項目

- ・Cytochrome C Oxidase 活性増強タンパク質 Higd1 の構造に基づく機能解析
- ・ATP 合成酵素活性増強タンパク質 G0s2 の機能解析
- ・ATP 代謝アッセイ系の構築
- ・酸化的リン酸化活性化剤/阻害剤の同定と構造活性相関解析
- ・酸化的リン酸化酵素活性化剤・抑制剤を利用した創薬開発

### (2)「青山」グループ

① 主たる共同研究者:青山 浩 (大阪大学薬学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・Higd1 の大量精製
- ・COX と Higd1 の共結晶化条件の検討

### (3)「北風」グループ

① 主たる共同研究者:北風 政史 (国立循環器病研究センター臨床開発部、部長)

② 研究項目

- ・大動物における G0s2 の発現条件検討

・HigD1、G0s2 等ヒトにおける遺伝子変異解析

(4)「朝野」グループ

① 主たる共同研究者:朝野 仁裕 (大阪大学医学系研究科、講師)

② 研究項目

・生体内外 ATP 産生定量化技術の確立・洗練化

・HigD1、G0s2 等ヒトにおける疾患遺伝子変異解析

(5)「島田」グループ

① 主たる共同研究者:島田 敦広 (岐阜大学応用生物科学部、助教)

② 研究項目

・COX 精製の効率化

・COX と HigD1 の共結晶化条件の検討

(6)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

① 結晶構造解析 仲村勇樹 熊坂崇 (Spring8/JASRI)

② Cryo-EM 白水美香子、横山武司、内窪友美 (理化学研究所 生命機能科学研究センター)

③ 質量分析 高藤和輝(サントリー)

④ 分子シミュレーションによる構造解析 本間光貴(理研・創薬)

⑤ ミトコンドリア患者細胞供給・遺伝子解析サンプル供与  
後藤雄一(国立精神神経医療研究センター)

⑥ 共鳴ラマン分光測定 久保稔、柳沢幸子(兵庫県立大学)

⑦ COX 精製・構造解析 伊藤恭子、月原富武(兵庫県立大学)

⑧ 核磁気共鳴画像解析 樋口隆弘(国立循環器病研究センター)、斎藤茂芳(大阪大学・保健学科)

⑨ 光クロスリンク技術 樋野展正(大阪大学・薬学部)