

Title	脂質二重膜におけるアンフォテリシンBと脂質分子の相互作用に関する研究
Author(s)	松岡, 茂
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/44094
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	まつ 松 おか 岡 しげる 茂
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 17518 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	脂質二重膜におけるアンフォテリシン B と脂質分子の相互作用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 村田 通雄 (副査) 教授 楠本 正一 教授 相本 三郎

論 文 内 容 の 要 旨

アンフォテリシン B (AmB) は放線菌により生産される強力な抗真菌剤で、医薬として広く普及している。その薬理作用機構は細胞膜中でのチャネル様会合体の形成によるものとされるが、会合体の構造に関する詳細な分光学的解析は達成されていない。AmB・コレステロール樽状複合体チャネルは最も広く知られる推定構造であるが、矛盾する実験結果も数多く報告されており議論を呼んでいた。申請者の所属する研究室では AmB のチャネル構造解明を目指した研究を進めており、AmB・コレステロール複合体モデルの妥当性を検討する必要がある。そこでチャネル形成に対するコレステロールの影響を確認することにした。

AmB のチャネル形成は①水溶液中から細胞膜への分配、②細胞膜上でのチャネル形成の二段階に分けられる。申請者はそれぞれの過程に対するコレステロールの働きが異なると考え、これらを分離することにした。脂質二重膜形成後に AmB を添加して①と②の両方の課程に対するコレステロールの作用を (added-to-membrane)、脂質二重膜形成時に AmB を混入することで②の課程におけるコレステロールの作用を (mixed-with-lipid) 選択的に観察した。それぞれの脂質二重膜の K^+ 透過性を比較したところ、added-to-membrane ではコレステロールによるチャネル活性の促進が見られたが、mixed-with-lipid ではコレステロールによるチャネル活性の阻害が確認された。このことからコレステロールは AmB の膜への結合を促進するが、膜に結合後はチャネル形成を阻害することが明らかになった。コレステロールにより膜結合 AmB のチャネル形成が顕著に阻害されることは本研究によって初めて明らかにされた。

コレステロールの作用は、AmB 分子との直接相互作用ではなく、リン脂質二重膜の物理的性質変化の間接的影響によるものと考えられた。特にコレステロールがリン脂質二重膜を厚くする作用が阻害効果の原因と考えられたので、脂肪酸の長さが異なるフォスファチジルコリン (PC) を卵黄 PC に添加することで膜の厚さを変化させ、その影響を調べることにした。C10 から C18 までの脂肪酸鎖をもつ PC の添加効果を観察したところ、C12 より短い PC で顕著な促進活性が、C18 の長い PC では阻害効果がみられた。この結果は AmB がリン脂質二重膜の厚さのわずかな変化を認識できることを示す。AmB のチャネル活性の研究例は膨大であるが、リン脂質の添加効果が調べた研究は前例がなく、短い PC が促進効果を持つことは本研究により明らかにされた。

さらに、AmB・リン脂質間の直接相互作用がチャネル形成に及ぼす影響を調べることにした。しかし、AmB と直接相互作用するリン脂質はその他のリン脂質と容易に交換可能であると考えられ、注目するリン脂質の影響を選択的に

観察することは難しい。そこで目的とするリン脂質を AmB に短いリンカーを用いて共有結合で連結し、その連結体の活性から AmB-リン脂質の直接相互作用の影響を調べた。C12 から C18 までアシル鎖長の異なる 4 つの連結体を作製したところ、C12、C14 連結体と C16、C18 連結体の間でチャンネルの性質が大きく変わった。この結果、リン脂質と AmB の間になんらかの分子認識が存在し、チャンネルの性質に大きく影響することが示された。

論文審査の結果の要旨

松岡君の博士論文は、重要な医薬品であるアンフォテリシン B について書かれており、その作用の分子機構の解明を目指したものである。松岡君は、リン脂質二重膜からなるリポソームを用いて、膜中に形成されるアンフォテリシン B 分子の会合体についてイオン流入活性を測定した。このときに、リン脂質およびコレステロールがイオン流入に与える影響を精査し、コレステロールが液晶状態の脂質二重膜においてイオン作用を阻害することを初めて示した。また、リン脂質の鎖長がイオン流入に大きく影響すること、短鎖脂質が鋭著な促進効果を有することを示し、アンフォテリシン B と脂質分子の直接的な分子間相互作用の存在を明らかにした。さらに、リン脂質とアンフォテリシン分子を化学的に結合した連結体を調製してイオン流入作用を調べた結果、短鎖脂肪酸連結体が特に高濃度において顕著に流入作用を増強した。その UV スペクトルや単一チャンネル電流測定などから、アンフォテリシン B 分子自体より安定な会合体を形成していることが示唆された。

これらの業績は、アンフォテリシン B の作用研究に新しい視座を加えるものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値があるものと認める。