

## 事後評価報告書（日英研究交流）

1. 研究課題名：多剤排出トランスポーターの結晶構造に基づく、多剤排出メカニズムの解明

2. 研究代表者名：

2-1. 日本側研究代表者：村上 聡

(東京工業大学大学院 生命理工学研究科 教授)

2-2. 英国側研究代表者：Hendrik Willem van Veen

(Senior Lecturer, Department of Pharmacology, University of Cambridge)

総合評価：「秀」

3. 研究交流実施内容及び成果：

本研究交流では、医療現場で問題となっている薬剤耐性化に焦点をあて、その主因である多剤排出トランスポーターの分子構造に基づく薬剤排出メカニズムの本質的解明を目的とする。具体的には、薬剤排出トランスポーターの構造生物学的研究において、日本側の X 線結晶解析技術と、英国チームの膜輸送活性測定技術を相互補完的に組み合わせ、多剤排出トランスポーターによる細胞からの薬剤排除メカニズムについて、細胞内動態の見地から明らかにすることを目指す。

研究成果としては以下のとおり。

(1) 日本側の研究成果

①グラム陽性菌由来 RND 型トランスポーターの探索、クローニング

a. 外膜を有しないグラム陽性細菌に RND 型トランスポーターのホモログを検索し、ゲノム情報より数十種類のホモログ遺伝子のクローニングに成功した。

b. これらの活性測定を英国側で実施した結果、グラム陽性細菌由来の RND 型トランスポーターは、外膜非依存的に機能することを新たに見いだした。

②大腸菌 AcrB (RND 型トランスポーター) タンパク質の機能解析

a. 大腸菌由来の AcrB タンパク質と基質特異性が異なる AcrD タンパク質とのキメラタンパク質を作製し、薬剤耐性スペクトルを測定した。その結果、これらの基質特異性を決定する部位の同定に成功した。

b. 英国側との研究交流により、上記の知見が ABC トランスポーターである ABCG2 タンパク質と類似していることが判り、共著論文を投稿中である。

③ABC 型排出トランスポーターの機能解析

タンパク質立体構造が明らかとなっている ABC 型排出トランスポーターを対象とし、その立体構造情報の検討を実施した。英国側の機能分析の結果と組み合わせ、その成果を英国側と共著論文として報告するに至っている。

## (2) 英国側の研究成果

### ① グラム陽性菌の RND 型トランスポーターの活性検証

乳酸菌を用いたトランスポーターアッセイ系を用い、日本側がクローニングしたグラム陽性菌由来 RND 型トランスポーターのあるものについて活性を見いだすことに成功した。

### ② 大腸菌 AcrB (RND 型トランスポーター) タンパク質の機能解析

日本側が検討を行った大腸菌 AcrB (RND 型トランスポーター) タンパク質の機能解析について、共著論文を投稿に至っている。

### ③ ABC 型排出トランスポータータンパク質の機能解析

英国側は ABC 型排出トランスポーター (MsbA) を主な対象として研究を進め、その機能解析を実施した。日本側の構造解析結果と組み合わせた結果、疎水性アミノ酸と荷電性アミノ酸の組み合わせによる基質認識機構を見いだすことに成功し、その成果を日本側と共著論文として報告するに至っている。

## 研究成果の今後期待される効果

### ・ 科学技術進展の面から

細菌にみられる RND 型排出トランスポーターと高等動植物にみられる ABC 型排出トランスポーターの比較解析により、これらタンパク質の構造・機能連関に関する知見が得られている。また、本研究交流により得られたグラム陽性細菌由来の RND 型トランスポーターを用いた同ファミリーのアッセイ系は、当該研究分野に新たな研究手法を与えたと日本側研究グループは考えている。

### ・ 社会・産業への波及効果の面から

多剤排出トランスポーターにより排出されない薬剤排出トランスポーター阻害薬の分子設計や画期的な新薬創出の観点から、今後、薬剤耐性化した病原菌による感染症や抗ガン剤の薬剤耐性化の問題等に対して貢献することが期待される。

## 4. 事後評価結果

### 4-1. 総合評価

二次性多剤排出トランスポーターの構造解析で世界的な業績をあげている日本側代表者が、トランスポーターの機能解析で著名な英国側代表者と、排出トランスポーターのメカニズム解明に向けて行った研究交流である。提案書にほぼ沿って連携研究を行い、日本側と英国側の双方の解析を同じ試料系で行うに適した試料系の検索と発現を進め、一次性トランスポーターの基質認識に関する共著論文(Biochemistry 誌。ほかにも準備中)の発表など、十分な成果を得ている。医薬品開発などに貢献できるレベルの成果に将来つなげられる可能性を示し、本事業が

目指していた研究交流の典型例の一つとして、高く評価できる。

日本側代表者は英国側に打ち合わせのために十分な回数渡航しており、また、インターネットをコミュニケーション手段として活用するなど、チーム間の連携も実質的なものであったと考えられる。報告書に、先方の旅費準備（およびおそらく渡航の動機）が無かったことなどが強調されているのは、日本側代表者が真摯にこの事業に取り組んだ結果であると考えられる。一方、ワークショップの開催や、若手人材の交流などの点が理想的には進まなかったが、これらはむしろ科学者どうしが成果を求めて動くなかでやむをえない選択であったようにも考えられる。

#### 4-2. 研究交流の有効性

多剤排出トランスポーターは、院内感染や新興感染症などにおいて最も重要な研究テーマの一つであり、立体構造解析で著名な業績を出した代表者が、トランスポーター機能解析の英国側専門家と組んで、所属国や背景となる分野の違いを超えて協力したことは、新しい時代の科学技術研究のあり方を提示したと言ってよい。Biochemistry 誌への共同発表そのものは革新的な内容ではないが、その後にも共著での発表予定があり、新しい体制を構築して研究交流の有効性が継続していくものと期待できる。特に、研究交流を通してひとつの対象に対して異なる角度からアプローチすることによりメカニズム解明を進めるという手法を取り入れたことは大いに評価できる。

日本側での若手育成という観点からは、代表者の村上氏自身がこの事業に精力的に取り組んだため、成果は限定的である。しかし、村上氏が英国側で客員研究員となるなど、人的ネットワークの育成につながったと考えることができる。つまり、代表者自身が研究交流を通して成長したという意味では人材育成の効果はあったと判断される。

なお、当初の研究成果の目標に向け今後も交流が進められるようであるので、持続的な交流の発展が期待される。

#### 4-3. 当初目標の達成度

日本側は代表者の村上氏の個性が強く、やや単独プレー的な面があるように思われるが、構造を解く日本側と、機能実験が得意な英国側で良い実施体制が作れたと考えられる。特に、同一の目標に向けて共同研究が着実に進められたという点で評価できる。

若手の交流がなかったことと、ワークショップが開催されなかったことは、この研究交流の成果を将来にわたって、あるいは、外部に還元する努力が足りなかったことは否めない。しかし、日本側代表者と英国側との交流は十分に行われ、研究交流には支障がなかったと判断できる。英国側が日本に来ることは、おそらく強い動機もなく、また予算措置もされていなかったことは残念である。一方、ワークショップの形式的な開催よりも科学的成果の発展を選んだ点も十分に理解でき、計画書どおりではない面があるものの、おおむね良好と判断する。