

緑膿菌が分泌する鉄獲得タンパク質の標的誤認識を利用する緑膿菌の増殖阻害人工タンパク質を開発

名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻（渡辺芳人教授、荘司長三准教授、大学院生の白瀧千夏子さん）、理化学研究所播磨事業所（城宜嗣主任研究員、杉本宏専任研究員）、山口大学農学部（小崎紳一教授）の研究グループが、多剤耐性菌による院内感染が社会問題となっている緑膿菌に対する新しい作用機構の増殖阻害人工タンパク質を開発しました。体内に寄生する緑膿菌は、生育に必須の鉄分を得るために、ヘム鉄獲得タンパク質（HasA）を分泌して、赤血球に多く含まれるヘモグロビンのヘム鉄を奪い取って菌体内に取り込むシステムを発達させています。今回、HasA がヘム鉄とは大きさや形状が異なる人工化合物であっても、それらをヘム鉄と間違えて捕捉してしまう事をタンパク質 X 線結晶構造解析により明らかにしました。そして、東海道新幹線の車体などにも利用されている青い色素分子のフタロシアニンを結合させた HasA（「偽の HasA」）を緑膿菌の培養液に添加する実験を行ったところ、緑膿菌は「偽の HasA」を「本物の HasA」と区別することができず、鉄フタロシアニンを取り込もうするため、緑膿菌のヘム獲得が阻害され、増殖が抑制されることを見出しました。抗生物質を利用せずとも緑膿菌の増殖を阻害できることから、多剤耐性緑膿菌にも有効な新規緑膿菌殺菌方法の開発へと発展することが期待できます。

本研究成果は、平成 26 年 2 月 5 日にドイツ化学会誌「*Angewandte Chemie International Edition*」のオンライン版に掲載されています。

緑膿菌の飛び道具「ヘム鉄獲得タンパク質」を改造した「偽のタンパク質」
により緑膿菌を“だます”新しい増殖阻害システムを開発
—多剤耐性緑膿菌の新規殺菌法への発展に期待—

【ポイント】

1. 緑膿菌が分泌するヘム鉄獲得タンパク質 (HasA) がヘム鉄とは構造が異なる合成化合物をヘム鉄と間違えて捕捉してしまうことを発見
2. 合成化合物を捕捉した「偽の HasA」の構造をタンパク質 X 線結晶構造解析により原子レベルで明らかにした
3. 緑膿菌は、ヘム鉄とは異なる合成化合物を捕捉した「偽の HasA」と、ヘム鉄を捕捉した「本物の HasA」を区別できないことを発見し、これを利用して緑膿菌の増殖を抑制する事に成功

【背景】

緑膿菌は多剤耐性菌の出現による院内感染が社会問題となっている細菌で、多剤耐性緑膿菌を殺菌する新しい手法の開発が待ち望まれている。体内に感染した緑膿菌は、不足する鉄分を得るために、「ヘム鉄」と呼ばれる鉄含有化合物の獲得を目的として、ヘム鉄獲得タンパク質 (HasA) を分泌し、赤血球中に豊富に存在する酸素運搬タンパク質の「ヘモグロビン」に含まれているヘム鉄を奪い取って利用するシステムを持っている (図1)。鉄欠乏状態で菌体外に放出された HasA は、ヘム鉄を結合すると緑膿菌に戻り、菌体表面に存在する特異的受容体タンパク質 (HasR) にヘム鉄を受け渡す。ヘム鉄は HasR を通って細胞内へ輸送され、鉄分として利用される。鉄分は緑膿菌にとっても不可欠な栄養素であるため、鉄の供給を遮断することで、抗生物質を利用しなくとも、緑膿菌を殺菌することが可能である。

【研究の内容】

ヘム鉄を獲得するために緑膿菌が分泌するヘム鉄獲得タンパク質の HasA に、ヘム鉄とは構造が異なる平面型の合成金属錯体を添加したところ、「HasA は平面型の合成金属錯体をヘム鉄と間違えて捕捉してしまう」ことを発見した。平面型の合成金属錯体を結合した HasA の結晶化に成功し、理化学研究所播磨事業所スプリング8の理研構造ゲノムビームライン BL41XU, BL26B1, BL26B2 にて結晶構造解析を行い、その構造を原子レベルで明らかにすることに成功した。「平面型の合成金属錯体を捕捉した HasA の構造は、本来の標的であるヘム鉄を捕捉した構造と外観はほとんど変わらない」ことが明らかになった。そして、鉄フタロシアニンと呼ばれる大型で疎水性の高い平面型の合成金属錯体を結合した HasA を「偽の HasA」として、生きている緑膿菌に微量添加すると、緑膿菌の増殖を阻害できることを発見した。緑膿菌の外膜に存在する HasA のレセプタータンパク質の HasR は、鉄フタロシアニンを結合した「偽の HasA」と、本来の標的であるヘム鉄を結合した「本物の HasA」を区別することができず、「偽の HasA」により HasR の取り込み口が塞がれてしまうために、緑膿菌への鉄分の供給が遮断され、緑膿菌が増殖できなくなったと考えている (図2)。

【成果の意義】

多剤耐性菌を殺菌するために新たな抗生物質が絶えず開発されているが、細菌は抗生物質をうまく排出する手法を獲得するなどしてすぐに耐性化するために、抗生物質の開発と細菌の進化はまさに「イタチごっこ」で、すべての抗生物質が効かない多剤耐性菌の出現も遠い未来のことではないと考えられている。従って、抗生物質とは作用機構が異なる殺菌方法の開発は現代医学にとって重要な解決すべき課題である。今回我々が発見した鉄フタロシアニン結合型 HasA による緑膿菌の増殖阻害は、抗生物質を一切用いずに緑膿菌の増殖を防ぐことができることから、新規多剤耐性緑膿菌の殺菌方法の開発へと発展できると期待している。

【用語説明】

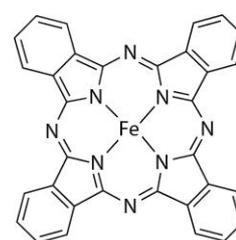
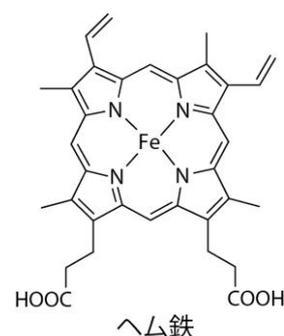
緑膿菌：動物(ヒトも含む)の体内や、環境中(特に水回りなど)に生息するグラム陰性桿菌。通常、健康な人には害はほぼ無いが、お年寄りなど免疫力が低下している人が緑膿菌に感染して死亡したりする場合がある。さらに、抗生物質が効かない「多剤耐性緑膿菌」による院内感染が社会問題となっている。

ヘモグロビン：赤血球中にある酸素運搬タンパク質。血が赤いのは、ヘモグロビンの色が赤いため、ヘモグロビンが赤いのはヘム鉄を含むため。

ヘム鉄：平面型の鉄含有金属錯体で生体内に広く存在し、生物種で共通に利用されている赤色の補欠分子族。最近では、鉄分補給を目的としたサプリメントとして薬局等で市販されている。

HasA：鉄欠乏状態に陥った緑膿菌から分泌される小型のヘム獲得タンパク質。緑膿菌から分泌され、ターゲットであるヘム鉄を捕捉し、このヘム鉄を特異的受容体タンパク質 (HasR) へと渡す(図1)。ヘムを結合した HasA の構造は、横から見ると魚がヘム鉄をくわえたような独特の構造をしている(図1)。

鉄フタロシアニン：ヘム鉄よりも大型の平面型金属錯体。高い疎水性を示す(すなわち、水との親和性が低い)。汎用性の高い分子で、顔料等としてもしばしば利用されている。(金属を含まないフタロシアニンは東海道新幹線の青い色素として、銅を含むものは東北新幹線の緑の色素として利用されている)



鉄フタロシアニン

【掲載雑誌名】

Angewandte Chemie International Edition (Wiley-VCH) アンゲヴァンテ・ケミー・インターナショナル・エディション

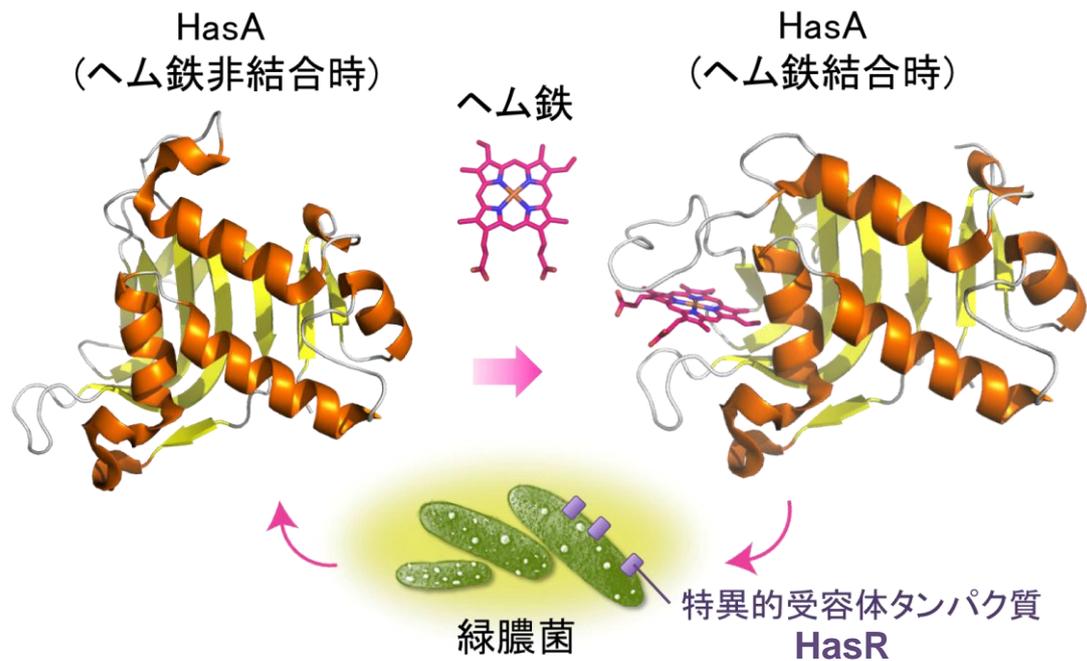


図1：緑膿菌のへム鉄獲得システム

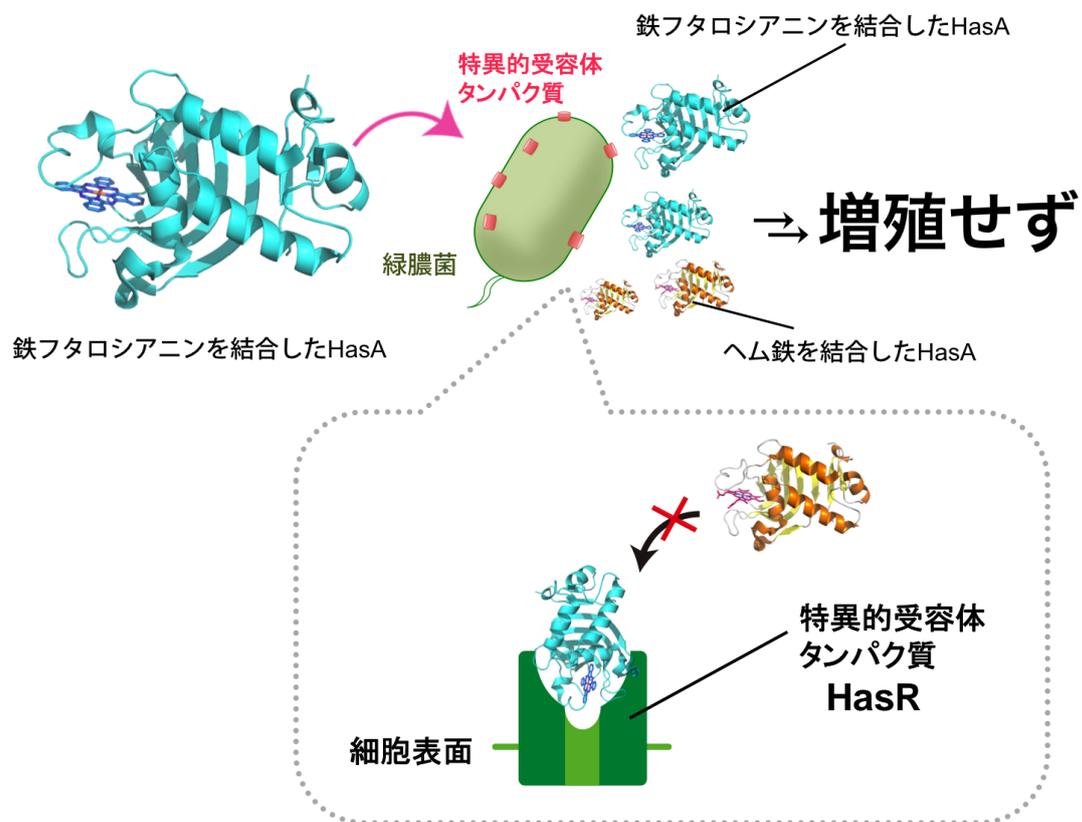


図2：緑膿菌のへム鉄獲得システムの阻害