

β-ラクタム抗生物質の輸送担体は何か?!

山本 浩一

β-ラクタム抗生物質には多くの誘導体が存在するが、そのなかでアミノ-β-ラクタム抗生物質には、脂溶性が低いにもかかわらず吸収の良好な誘導体が多い。そのため何らかの特殊輸送系、特にオリゴペプチドに対する輸送系の関与が考えられてきた。担体輸送の直接的な証明には、担体蛋白質を生体から単離し、その機能を実証することが有効であるが、活性を保持した蛋白質を精製し、試験管内で機能を再構成することは非常に困難であった。しかし近年、分子生物学的手法により、輸送担体蛋白質をコードする遺伝子がいくつか単離され、β-ラクタム抗生物質輸送担体の実体解明と分子レベルでの輸送機構解析が大きな進展を見せている。

これまでオリゴペプチド輸送担体は、*in vivo* 臓器クリアランス法、細胞膜小胞系、Caco-2 培養細胞系などの膜生理学的手法による機能面から主にアプローチが行われてきた。分子レベルでのアプローチとしては、Kramer 等¹⁾により [³H]ベンジルペニシリンを用いたフォトアフィニティー標識と輸送活性のリポソームへの再構築の結果から、127 kDa 蛋白質が同定された。しかしながら、彼ら自身論文中

で、この蛋白が輸送担体の実体であるのか、複数のコンポーネントのうちの1つ(例えば結合蛋白質)であるのかについてはさらに検討を要すと述べている。

近年、Fei等²⁾は、アフリカツメガエル卵母細胞での輸送活性発現を指標とした Expression cloning によって、家兎小腸の cDNA ライブラリーより、12回膜貫通領域を持つ約70 kDaの蛋白質をコードする遺伝子(PepT 1)を単離した。ほぼ同時期に Dantzig等³⁾は、Caco-2細胞のβ-ラクタム抗生物質輸送活性を阻害するモノクローナル抗体を作成し、これとの反応性を指標に1回膜貫通型の92 kDa蛋白質をコードする遺伝子(HPT-1)をCaco-2細胞ライブラリーより単離したが、CHO細胞上での輸送活性発現があまり顕著ではないことや、既知の輸送担体の多くが複数の膜貫通領域を持つことから、このHPT-1はむしろ別の担体の調節因子として働くものと考えられている。

腎上皮でもペプチド類似薬物の再吸収に関与する輸送担体として、PepT 1のホモログとしてPepT 2が複数のグループによって単離された。今年に入って Boll等⁴⁾も Expression cloning により単離した腎のペプチドトランス

ポータ rPepT 2を報告したが、それらは互いに非常に高いホモロジーを有していた。PepT 1とPepT 2との間では、一次構造その他に相違が見られたが(表)、このことは輸送担体の構造と基質認識特性、各臓器での機能分化を考える上で非常に興味深い。

以上、ここでは紹介できなかったものも含めこの2年間の10報たらずの論文により、β-ラクタム抗生物質輸送担体の存在は確実なものとなった。しかし、クローニングの本質的な問題として、そのクローンが *in vivo* をどの程度反映するものか、すなわち、偶然単離したマイナーコンポーネントを見ているだけではないのかという点に注意が必要である。現に発現している蛋白質を mass としてとらえる解析も同時に重要であると思われる。いずれにしても、輸送担体の詳細な分子機構解析によって基質認識部位等の情報が蓄積し、メカニズムに基づいた合理的な経口剤の開発が、今後さらに進展することを期待する。

- 1) Kramer W. et al., *Eur. J. Biochem.*, 204, 293 (1992).
- 2) Fei Y. J. et al., *Nature*, 368, 563 (1994).
- 3) Dantzig A. II. et al., *Science*, 264, 430 (1994).
- 4) Boll M. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93, 284 (1996).

(金沢大学薬学部助手)

表. 家兎小腸及び腎皮質より単離されたペプチド輸送担体の構造及び機能特性の比較⁴⁾

基質特異性	Yes	No
α-アミノ基要求性	Yes	No
ACE 阻害剤輸送	No	Yes
Km(cefadroxil), μM	≤50	≥1000
至適 pH	≤6.0	6.5
<i>in vitro</i> 翻訳産物の分子量		
糖修飾有り	83	60
糖修飾なし	107	71
アミノ酸配列同一性, %		
全体	47	
細胞外ループ	21	
膜貫通領域	61	