

1. 人獣共通感染症の病原因子である寄生蠕虫類に対する新規薬剤開発の試み 薬剤ターゲットとしてのフォスファージェンキナーゼの分子生物学的研究

長瀧 充¹⁾, B. R. Jarilla¹⁾, S. Wickramasinghe¹⁾, 徳弘 慎治¹⁾,
宇田 幸司²⁾, 鈴木 知彦²⁾, 吾妻 健¹⁾

¹⁾高知大学医学部環境保健学教室 ²⁾高知大学理学部物質科学科生体機能物質工学

1. 目的

フォスファージェンキナーゼ Phosphagen Kinase (PK) は、ATP とグアニジノ基質との間の可逆転移を触媒する酵素で、細胞内のエネルギー産生に寄与している。PK には8種類あることが確認されており、脊椎動物にはクレアチンキナーゼのみ、無脊椎動物にはアルギニンキナーゼを主として、全種類の PK が存在する。また、各種 PK には各々のグアニジノ基質が存在し、その基質特異性の高さから、寄生虫 PK のみを阻害する新規薬剤が利用できる可能性が期待されている。今回はその基礎研究として寄生吸虫類であるウエステルマン肺吸虫の PK 種の特定を主な目的として、研究を行った。

2. 方法

寄生吸虫類であるウエステルマン肺吸虫から PK 遺伝子を RT-PCR にて増幅し、クローニング、シーケンスを行い、その配列に基づき組み換えタンパクを発現した。組み換えタンパクの酵素活性と反応速度パラメーターを、NADH 系分光学的定量法、フォスファージェン合成系の前方反応で測定した。

3. 結果

ウエステルマン肺吸虫 PK の cDNA は 2,142 bp で 713 アミノ酸をコード(約 80kDa)する 2ドメイン構造であった。系統樹解析では AK グループに属すが、GS 領域のアミノ酸配列相同性から AK ではない稀有な PK の可能性が示唆されたが、酵素活性測定の結果、タウロシアミンに特異的な活性を示したので、タウロシアミンキナーゼ (TK) であることが明らかとなった。肺吸虫 TK は、系統樹解析において AK グループに属し、以前に我々が報告した同じ蠕虫類に属する線虫類の AK とは少しはなれて、マンソン住血吸虫 PK と共に軟体動物 AK の近くに位置している。また、最近の我々の研究により、日本住血吸虫の PK が TK であることも確認されている。これらの吸虫類 TK はアミノ酸配列相同性においても、CK グループから 2 次的に進化したと思われる TK よりも AK グループに近似であるため AK から進化したものと思われる。酵素活性の比較では、組み換え TK において反応効率 ($K_{cat}/K_m^{Tauro} = 39.14 \text{ S}^{-1}\text{mM}^{-1}$) が最も良いのは 2ドメイン型であった。また、全体的な比較においても、反応効率が最も優れていた。つまり、進化において、2ドメイン型の獲得は、代謝効率において非常に有用であったと思われる。タウロシアミンとの親和性も高く ($K_m^{Tauro} = 0.37 \text{ mM}$)、非常に高い基質特異性があるので、高い阻害効果が期待できる。

4. まとめ

今後の課題として、変異体の導入による重要なアミノ酸残基の探索と、それに基づく肺吸虫などの寄生虫 TK の阻害による殺寄生虫効果に重点を置いて研究を進める必要がある。また、ウエステルマン肺吸虫 TK は肺吸虫症に対する特異的な診断材料となる可能性が高い。