

【 75 】

氏 名	大 木 和 夫 <small>おおきかずお</small>
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 515 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学位論文題目	燐脂質モデル膜内でのポリエン系抗生物質とステロールの相互作用

論文調査委員 (主査) 教授 大西俊一 教授 大井龍夫 教授 寺本 英

論 文 内 容 の 要 旨

かび類による疾病は難治のものが多く、有効な薬物に乏しいが、ポリエン系抗生物質はその数少ない薬物の例である。これらはバクテリアには無効であるが、真菌類には有効という特質をもっている。その作用機構としては、真菌類の細胞膜中のエルゴステロールと相互作用し、膜の透過性の増大、リシス、そして死に至らしめることが知られている。しかし、哺乳動物の細胞膜に広く分布しているコレステロールとも強く相互作用するので、細胞に傷害を与える。したがって、膜内でのポリエン系抗生物質とステロールの相互作用の研究は、生体膜の分子生理学という基礎面のみならず、薬理作用の解明という応用面でも重要な課題であった。

申請者は、膜内でのポリエン系抗生物質とステロールの相互作用を、スピンプローブを用いて研究している。プローブとしては、 $3\beta$  の位置に水酸基をもつエピアンドロステロンの誘導体を合成して用いた。これは、ポリエン系抗生物質との相互作用には、 $3\beta$  の水酸基が必要であることが知られているためである。比較のためにコレスタノンスピンプローブも用いた。また、ホスファチジルコリンスピンプローブを用いて、抗生物質とステロールの相互作用のリン脂質に及ぼす影響を研究した。膜系としては、ジェライドイルホスファチジルコリンおよびジミリストイルホスファチジルコリンのモデル膜を用いた。

燐脂質二重層膜の中に、エピアンドロステロンプローブとポリエン系抗生物質を入れて ESR スペクトルを測定すると、二重層中に遊離して自由なプローブの信号と、抗生物質に結合したプローブによる信号が重なって観測された。後者は、最外側ピーク間隔が65 Gauss で、プローブの運動性は著しく束縛されている。二成分の信号の強度比から、膜内での結合定数が求められる。同様の測定を、抗生物質、ステロール、エピアンドロステロンプローブの三成分系で行なうことにより、ステロールと抗生物質間の結合定数も得られた。その結果を表1にまとめる。膜内での結合定数が直接測定されたのは初めてである。この結果から、同じポリエン系抗生物質でも、フィリピンとアンホテリシン B では、ステロー

表1 結合定数単位は  $\text{mM}^{-1}$ ,  $20^\circ\text{C}$

	フィリピン	アンホテリシンB
エピアンドロステロンスピンプローブ	0.51	1.5
コレスタノンスピンプローブ	0.08	
コレステロール	24	2.5
エルゴステロール	1.2	1.6

ルに対する構造要求性が著しく異なることがわかる。

ホスファチジルコリンスピンプローブを用いた研究では、フィリピンとコレステロールが相互作用すると、リン脂質アルキル鎖のオーダーパラメータが減少、すなわち膜の流動性が増大することが明らかにされた。コレステロールは、もともと膜の流動性を減少させていたのであるから、フィリピンはこれを回復の方向に変化させる。いっぽう、アンホテリシン B は、流動性を増大させることなく、むしろ少し減少させた。

最後に、これらの相互作用に及ぼす膜の相転移の影響を調べ、重要な知見を得ている。ジェライドイルホスファチジルコリンの転移温度は $13^\circ\text{C}$ であるが、これより低温にして結晶相にすると、フィリピン-エピアンドロステロンプローブの相互作用は著しい影響をうけた。結合量が約40%から80%に急増する。また、最外側ピーク間隔も増大した。いっぽう、アンホテリシン B の場合には影響が小さい。フィリピンの場合には、媒体が結晶相になると、抗生物質とステロイドの複合体がさらに集まって、大きい凝集体をつくると推論された。

この他にも、テトラヒメナ膜について、流動性の調節に関する重要な知見を得ている。

### 論文審査の結果の要旨

申請者の論文は、ポリエチレン系抗生物質とステロールの膜内での相互作用を、ステロイドスピンプローブ、ホスファチジルコリンスピンプローブを用いて、分子のレベルから直接明らかにしたものであり、極めてユニークな研究である。そして、その結果から、従来行なわれてきた電子顕微鏡や分光学的方法を用いた研究では得られない多くの重要な結論を導いている。その主なものは、膜内での結合定数の測定、抗生物質とステロールの相互作用の立体特異性、膜流動性への影響、膜の相転移との関係、などである。そして、これらのいずれの点においても、フィリピンとアンホテリシン B が著しく異なることを明らかにしている。これらの成果は、生体膜の分子生理学の分野に重要な貢献をなし、また真菌症の薬理学の分野にも基礎的に重要な貢献をなすものと思われる。参考文献は、ESR スペクトルの解析、テトラヒメナ膜の流動性の調節、リン脂質の膜間の移行に関するもので、本論文とともに、申請者のESR、コンピュータ、細胞生理学、などに対する豊富な学識と優れた研究能力を示している。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。