

立体構造に基づくオクタン酸ナトリウム及び *N*-アセチル-*L*-メチオニンの ヒト血清アルブミン安定化効果に関する考察

Structure-based study on the human serum albumin stabilizing effect of sodium octanoate and *N*-acetyl-*L*-methionine

河合聡人^{1,*a}, 小田切優樹^{1,2,*b}

¹ 崇城大学薬学部, 〒860-0082 熊本県熊本市西区池田 4-22-1

² 崇城大学 DDS 研究所, 〒860-0082 熊本県熊本市西区池田 4-22-1

Akito Kawai^{1,*a} and Masaki Otagiri^{1,2,*b}

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sojo University, 4-22-1 Ikeda Nishi-ku, Kumamoto, 860-0082, Japan

² DDS Research Institute, Sojo University, 4-22-1 Ikeda Nishi-ku, Kumamoto, 860-0082, Japan

1 はじめに

ヒト血清アルブミン (HSA) を主成分とするアルブミン製剤は、出血性及び外傷性ショック、肝硬変、ネフローゼ症候群など、低アルブミン血症に基づく病態の改善に用いられる医薬品である。アルブミン製剤の原料はヒト血液であるため、混在するウィルスなどを無効化するため製造過程で低温殺菌 (60°C, 10 時間) が実施されている。従って、アルブミン製剤には、HSA の熱安定性を向上させるオクタン酸ナトリウム (Oct) と、HSA の酸化を防ぐ *N*-アセチル-*L*-トリプトファン (N-AcTrp) が添加されている[1]。しかし、N-AcTrp は光酸化されるため、アルブミン製剤の保存環境を考慮すると、より安定な抗酸化剤が添加されることが望ましい。我々の研究グループの河野らは、最近、*N*-アセチル-*L*-メチオニン (N-AcMet) が、Oct による HSA 熱安定化効果を妨げることなく、N-AcTrp と同等以上の HSA 酸化防止能を有していることを報告した[2]。そこで、我々は Oct と N-AcMet の添加によってもたらされる HSA 安定化効果の分子機構を明らかにするため、HSA-Oct-N-AcMet 三元複合体の立体構造解明を試みた。

2 実験

HSA-Oct-N-AcMet 複合体の結晶は、HSA-Oct 複合体の共結晶を作製した後、この結晶を N-AcMet を含む溶液に浸すことで調製した。回折データは波長 0.98 Å で収集し、分子置換法を用いて HSA-Oct-N-AcMet 複合体の構造を 3.0 Å で決定した。

3 結果および考察

HSA-Oct-N-AcMet 複合体の全体構造は、これまでに解明されていた HSA の構造と同様にハート型の構造を形成していて、Oct の結合部位は HSA のサブドメイン IIA と IIIA の 2ヶ所に、N-AcMet の結合部位はサブドメイン IIA に存在していることが明らかになった (図 1)。そして、いずれのサブドメインにおいても、Oct は分子内部の疎水性ポケットに

結合していた (図 2)。一方、N-AcMet は、サブドメイン IIA ポケットの入口部分に水素結合を介して結合していて、酸化を受けやすい側鎖部分は溶媒領域に露出していた (図 1、図 2a)。以上の結果と、これまでに報告された結合実験、HSA 変性過程に関する知見を踏まえ[1,3]、それぞれの添加剤の効果を考察すると、Oct 添加による HSA 熱安定化効果は、HSA サブドメイン IIIA ポケットに Oct が結合したことによって分子内部の相互作用領域が増加したことに起因すると考えられる。また、N-AcMet の結合部位は N-AcTrp の結合部位であるサブドメイン IIIA とは異なり、さらに、側鎖が溶媒領域に露出していることから、N-AcMet 添加による抗酸化効果は、HSA への結合に影響されることなく発揮されると考えられる[4]。

4 まとめ

Oct と N-AcMet の HSA 安定化に関わる分子機構が明らかになった。そして、構造化学的な視点からも N-AcMet が現在使用されている N-AcTrp より有用な安定化剤になり得ることが示唆された。

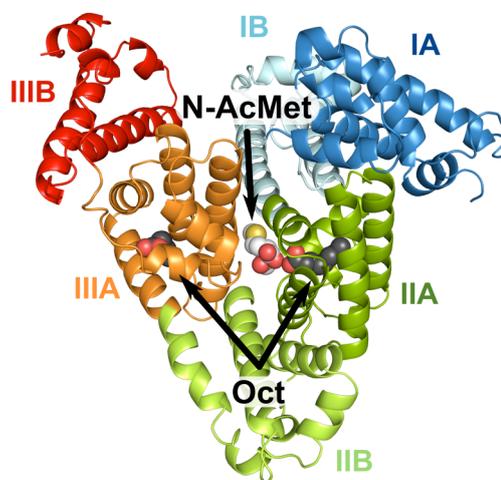


図 1 : HSA-Oct-N-AcMet 複合体の全体構造

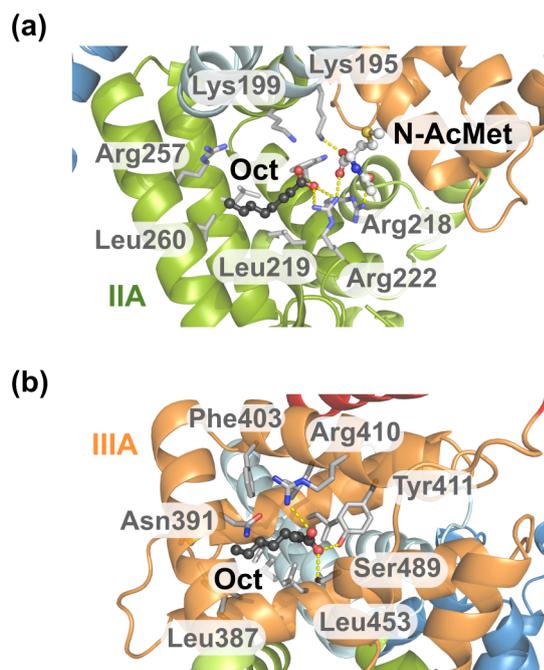


図 2 : HSA と Oct 及び N-AcMet の相互作用
(a) サブドメイン IIA、(b) サブドメイン IIIA

謝辞

本研究成果は、国立研究開発法人医療研究開発機構 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）の支援により得られました。本研究課題をご担当いただいた松垣直宏 先生をはじめ、放射光実験でお世話になりましたスタッフの皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- [1] M. Anraku *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* **1702**, 9-17 (2004)
- [2] Y. Kouno *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* **1840**, 2806-2812 (2014)
- [3] L. Galantini *et al.*, *J. Phys. Chem. B* **112**, 15460-15469 (2008)
- [4] A. Kawai *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* (in press)
DOI: 10.1016/j.bbapap.2017.04.004

*^a akawai@ph.sojo-u.ac.jp

*^b otagirim@ph.sojo-u.ac.jp