

# ヒト血清アルブミンとベンズブロマロン複合体の X 線結晶構造解析 Structure study of human serum albumin complexed with benzbromarone

河合聡人<sup>1,\*a</sup>, 山崎啓之<sup>2,3,\*b</sup>

<sup>1</sup>藤田医科大学医学部, 〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ケ窪 1-98

<sup>2</sup>崇城大学薬学部, 〒860-0082 熊本県熊本市西区池田 4-22-1

<sup>3</sup>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<sup>1,\*a</sup>, and Keishi YAMASAKI<sup>2,3,\*b</sup>

<sup>1</sup>Fujita Health University School of Medicine, 1-98 Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192, Japan

<sup>2</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sojo University, 4-22-1 Ikeda Nishi-ku, Kumamoto, 860-0082, Japan

<sup>3</sup>DDS Research Institute, Sojo University, 4-22-1 Ikeda Nishi-ku, Kumamoto, 860-0082, Japan

## 1 はじめに

ベンズブロマロンは 30 年以上前から痛風の治療に使用されている薬物である。その薬理作用は尿酸トランスポーター URAT1 を阻害することで近位尿細管における尿酸の再吸収を阻害する。このベンズブロマロンは生体内で血漿タンパク結合率が 99%以上と非常に高いことが知られていたが、結合するタンパク質種やその結合パラメータなどは不明であった。そこで、我々の研究グループではベンズブロマロンとヒト血漿中で最も多く含まれているヒト血清アルブミン (HSA) との相互作用解析を行い、X 線結晶構造解析法により HSA 分子内におけるベンズブロマロンの結合部位の同定を試みた [1]。

## 2 実験

HSA-ベンズブロマロン複合体の共結晶は、ハンギングドロップ蒸気拡散法を用いて、ストリークシーディング法により単結晶として析出させた。得られた単結晶は直接液体窒素に浸すことで急速に凍結した。X 線回折データは Photon Factory BL-17A 及び SPring-8 BL44XU で、波長 0.90 Å の X 線を用いて収集した。X 線回折データは XDS プログラムを用いて処理した。構造解析は Molrep プログラムを用いた分子置換法を行い、Coot プログラムを用いたモデル構築、phenix.refine プログラムを用いて構造精密化を行い、最終構造を決定した。

## 3 結果および考察

HSA-ベンズブロマロン複合体の立体構造を 3.29 Å 分解能で決定した。ベンズブロマロン分子には臭素原子が 2 原子含まれているため (図 1a)、その原子位置を異常分散差フーリエマップで決定し、ベンズブロマロンの結合部位を決定した。ベンズブロマロンの結合部位はサブドメイン IB、IIA、IIIA の 3ヶ所で観察され、このうちサブドメイン IB には 2 分子、IIA と IIIA にはそれぞれ 1 分子が結合していること

が明らかになった (図 1a-e)。この結果を踏まえ、それぞれの結合部位で競合するフシジン酸 (サブドメイン IB)、ワルファリン (サブドメイン IIA)、ジアゼパム (サブドメイン IIIA) を用いて、平衡透析法によりベンズブロマロンと HSA の結合パラメータの変化を解析した。その結果、すべての薬物で競合薬物量依存的に結合定数の低下が観察され、溶液中でも結晶構造で観察された結合部位にベンズブロマロンが結合していることが明らかになった。また、その結合定数の変化はジアゼパムと競合させた時が最も顕著であったことから、ベンズブロマロンは HSA のサブドメイン IIIA が高親和性結合部位、サブドメイン IB と IIA は低親和性結合部位であることが示唆された。

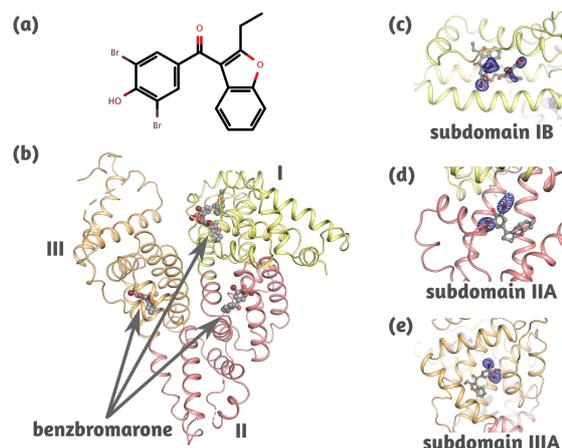


図 1 ベンズブロマロンの結合部位

異常分散差フーリエマップ (4.5 $\sigma$ , 青メッシュ) (a) ベンズブロマロンの構造式 (b) HSA-ベンズブロマロン複合体の全体構造 (c)サブドメイン IB 拡大図 (d)サブドメイン IIA 拡大図 (e)サブドメイン IIIA 拡大図

## 謝辞

放射光実験でお世話になりました PF スタッフの皆様へ深く感謝申し上げます。

参考文献

[1] Yamasaki K., Kawai A., *et al.*, *Mol. Pharm.*, **18**, 1061-1070 (2021)

\*<sup>a</sup> kawai-a@fujita-hu.ac.jp

\*<sup>b</sup> kcyama@ph.sojo-u.ac.jp