

サリドマイド水酸化代謝物によるネオ基質分解選択性の構造基盤 Structural bases for the degradation selectivity of neosubstrates by thalidomide metabolite

降旗大岳, 田之倉優, 宮川拓也

東京大学大学院農学生命科学研究科, 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Hirotake FURIHATA, Masaru TANOKURA, Takuya MIYAKAWA*

Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan,

1 はじめに

サリドマイド (Thal) とその誘導体は免疫調節薬 (immunomodulatory imide drugs, IMiDs) として多発性骨髄腫などの治療に現在使用されている。Thal の生体内における受容体 CRBN は E3 ユビキチンリガーゼの構成因子であり, Thal 依存的に標的タンパク質 (ネオ基質) を分解に導く。C2H2 zinc finger (ZF) 型転写因子の IKZF1 と SALL4 は, Thal の免疫調節作用と催奇性 (副作用) にそれぞれ関わり, Thal 依存的に 2 番目の ZF ドメイン (ZF2) で CRBN に結合する。一方, 投与された Thal は体内でフタルイミド環の 5 位が水酸化された代謝物 (5HT) を生じ, 5HT は SALL4 の分解を選択的に引き起こす [1]。本研究では, このネオ基質に対する Thal の選択性が体内代謝で変化する仕組みに着目した。

2 実験

Thal と 5HT の鏡像異性体 (R 体及び S 体) を評価したところ, S 体がより低濃度で CRBN と SALL4 の相互作用を誘導することが示された。そこで, 相互作用に必要な十分な CRBN のサリドマイド結合ドメイン (TBD) と SALL4 の ZF2 を調製し, S 体の Thal 及び 5HT の存在下で CRBN TBD と SALL4 ZF2 を共結晶化した。取得した結晶の X 線回折実験による評価とデータ収集は AR-NE3A ビームラインにて行った。

3 結果および考察

CRBN TBD-Thal-SALL4 ZF2 複合体及び CRBN TBD-5HT-SALL4 ZF2 複合体の結晶は空間群 C22₁ に属し, 結晶構造はそれぞれ 1.9 Å, 1.8 Å の分解能で決定した (図 1) [2]。複合体構造において, Thal と 5HT のいずれも CRBN TBD と SALL4 ZF2 をつなぎとめる“分子のり”の役割を果たしていた。Thal と 5HT の結合位置は同じであったが, 5HT の 5 位水酸基が CRBN TBD の His 残基と水分子を介した水素結合を形成し, 複合体形成の促進に寄与することがわかった。一方, 5HT の 5 位水酸基は複合体構造中で SALL4 ZF2 の β ヘアピンの 2 番目 (P2) と 9 番目 (P9) のアミノ酸残基の近くに位置しており, IKZF1 ではこれらの残基の種類が異なることが見出された。実際に SALL4 と IKZF1 の残基を入れ替えると 5HT は SALL4 ではなく IKZF1 に作用できるよ

うになり, 特に P2 がネオ基質に対する 5HT の選択性の鍵となる構造であることが明らかになった。

4 まとめ

本研究により Thal の標的タンパク質に対する作用が体内代謝を経て変化する仕組みを説明することができた。本研究で得られた構造的知見は, Thal の水酸化を回避することで SALL4 の分解に起因する催奇性を低減可能な新たな薬剤設計に活用が期待できる。また, Thal を含む IMiDs の薬効に必要な標的タンパク質への作用効率を高めるために, C2H2 ZF 型転写因子に見られる構造の違いを利用できる可能性が示唆された。

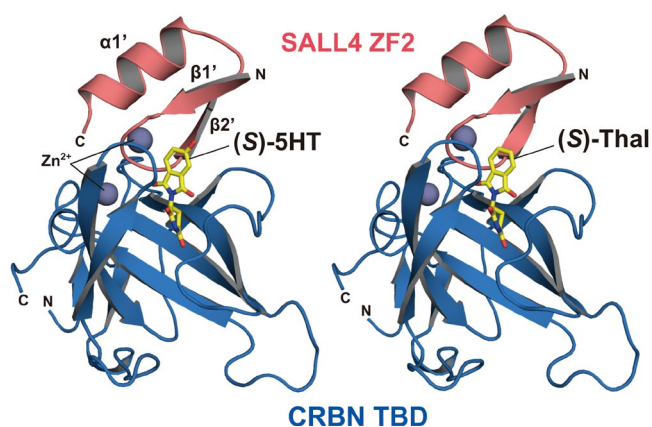


図 1 : (S)-5HT (左) 及び (S)-Thal (右) を介した CRBN TBD-SALL4 ZF2 複合体の結晶構造

謝辞

本研究の X 線回折実験を行うにあたり, 構造生物学研究センターの千田俊哉教授, 山田悠介助教をはじめ, ビームラインスタッフの皆様には大変お世話になりました。ここに感謝申し上げます。

参考文献

- [1] S. Yamanaka *et al.*, *EMBO J.* **40**, e105375 (2021).
[2] H. Furihata *et al.*, *Nat. Commun.* **11**, 4578 (2020).

* atmiya@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp