

ヒト血清アルブミンとミコフェノール酸複合体の X 線結晶構造解析 Structure study of human serum albumin complex with mycophenolic acid

河合聡人^{1,*a}, 山崎啓之^{2,3,*b}

¹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

²崇城大学薬学部, 〒860-0082 熊本県熊本市西区池田 4-22-1

³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 Keishi YAMASAKI^{2,3,*b}

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

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

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

1 はじめに

ミコフェノール酸はイノシン脱水素酵素を阻害することでヒト免疫を抑制する医薬品の薬効成分である。ミコフェノール酸は「ミコフェノール酸モフェチル」というプロドラッグで処方され、体内に吸収された後、速やかに分解を受けミコフェノール酸へと変換される。変換されたミコフェノール酸は血中では 97-99%がヒト血清蛋白質へ結合していることが知られている。しかし、腎障害時にはその結合率が低下することも知られていて、その結合特性の理解が必須であった。我々の研究グループは物理薬学的的手法を用いてミコフェノール酸が、ヒト血清アルブミン (HSA) に $1.96 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ の親和性で強く結合すること、その結合部位が HSA のサブドメイン IIA であることを解明した [1]。そこで、詳細な結合様式を解明するため、X 線結晶構造解析法を用いた立体構造解明を試みた。

2 実験

HSA-ミコフェノール酸-アリピプラゾール複合体の共結晶を、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、波長 0.98 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-ミコフェノール酸複合体の共結晶を調製し X 線回折実験を行ったが、分解能が 4 Å 程度と低く、化合物の結合様式を決定するのは困難だった。そこで、分解能の向上を目的に HSA とミコフェノール酸の結合を阻害しない化合物も加えた条件で再度結晶

化スクリーニングを行い、最終的に HSA-ミコフェノール酸-アリピプラゾールの 3 者複合体の立体構造を 2.99 Å 分解能で決定した。構造解析の結果、ミコフェノール酸は事前の実験で示唆された通り、HSA のサブドメイン IIA に 1 分子結合していた (図 1 左)。そして、ミコフェノール酸のイソベンゾフラン環が W214 とスタッキング相互作用し、ミコフェノール酸のカルボキシ基は Y150、H242、R257 と水素結合が形成可能な位置に存在していることが明らかになった (図 1 右)。これまでに決定された HSA のサブドメイン IIA に結合する化合物は、ポケットの内部、もしくは入り口付近に結合することが知られていた。これらの化合物の結合様式と比較すると、ミコフェノール酸の結合位置はちょうど中間に位置していた。我々はこのことが腎障害時にミコフェノール酸の血清蛋白質結合低下の要因であると考えていて、腎障害時に血中濃度が上昇する尿毒症物質や脂肪酸が HSA ポケットのより内部に結合することで、ポケットの中間に結合するミコフェノール酸が HSA から追い出されていると推察している。

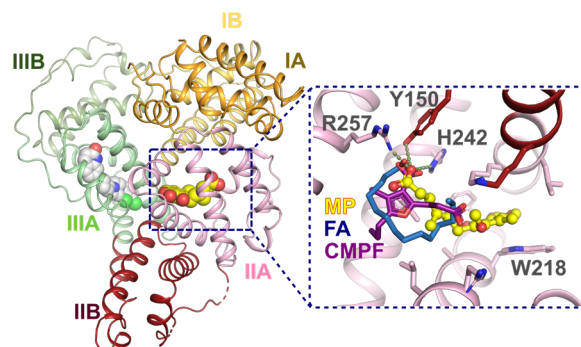


図 1 HSA とミコフェノール酸の相互作用

MP: ミコフェノール酸 (黄)、FA: 脂肪酸 (ミリスチン酸、青)、CMPF: 尿毒症物質 (CMPF、紫)

4 まとめ

ミコフェノール酸と HSA の詳細な結合様式の解明に成功した。解明した構造を基に腎障害時にミコフェノール酸の血清蛋白質結合率が低下する要因を考察した。

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., *et al.*, *J. Med. Chem.*, 66, 951–961 (2023)

*^a kawai-a@fujita-hu.ac.jp

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