

論文要旨

区分	甲	氏名 榎田泰介
論文題名		
4-フェニル酪酸ナトリウムの血清アルブミン結合に関する構造化学的研究		
論文の要旨		
<p>PB は現在、尿素サイクル異常症の治療に用いられているが、HDACs 阻害作用や小胞体ストレスの改善など多様な薬効により、さらなる臨床応用が期待されている。しかしながら、そのタンパク結合に関する情報は少なく、PB のヒトにおける薬物動態及び薬効・副作用との関係を考えるうえで、また、各種実験動物における薬物動態学的及び薬力学的データをヒトに外挿するうえで、タンパク結合の詳細を把握しておくことが重要となる。そこで本研究では、PB の HSA における結合特性並びに結合サイト構造の解明を行い、各種病態時に変動する内因性物質が PB の結合に及ぼす影響についても検討した。さらに、PB の動物種アルブミンにおける結合について検討し、その種差の解明を行った。以下に得られた知見を要約する。</p> <p>1) ヒト血漿における PB の主要結合タンパク種を検討した結果、PB は主に HSA に結合しており、他の血漿タンパク質への結合はほとんど確認できなかった。PB、その代謝物及び関連構造化合物を用いた検討より、いずれも HSA において、サイト II へ特異的に結合しており、その親和性は、フェニル基とカルボキシル基間のアルキル側鎖長に依存していた。また、サイト II の構造には、許容できる分子の至適サイズが存在していることが判明した。HSA における PB の結合特性を解明するため、熱力学的解析や関連構造化合物、界面活性剤及び電解質を用いた検討の結果、PB の結合には複数の相互作用が関与しており、水素結合、van der Waals 力、疎水性相互作用及び静電的相互作用などが寄与していると推察され、これらに関与しているアミノ酸残基を検討した結果、⁴¹¹Tyr 及び ⁴¹⁰Arg が重要であることが明らかとなった。さらに HSA-PB 複合体の X 線結晶構造解析の結果より、PB のカルボキシル基は HSA におけるサイト II 領域の ⁴¹¹Tyr、⁴¹⁰Arg 及び ⁴⁸⁹Ser の側鎖と水素結合を形成し、フェニル基及びアルキル側鎖は疎水性ポケットと van der Waals 相互作用しており、イブプロフェンやジアゼパムと類似の様式で結合していることが明らかとなった。特にイブプロフェンは、相互作用様式の検討から PB の結合を競合阻害するこ</p>		

とが明らかとなった。さらに、腎及び肝疾患時に変動する内因性物質である脂肪酸（特に中鎖脂肪酸）、ビリルビン及びインドキシル硫酸によっても PB の結合が阻害されることが判明した。

2) PB の哺乳動物（ウシ、ウサギ及びラット）の血漿における結合タンパク分子種の同定を行った結果、ヒト血漿中と同様にいずれの動物種においてもアルブミンが主要結合タンパク質であることが明らかとなった。また、PB 及び関連構造化合物は、すべての動物種アルブミンでヒトアルブミン分子上のサイト II に相当する部位へ結合しており、ヒトアルブミン同様に、疎水性相互作用及び静電的相互作用が関与していることが示唆され、その親和性は、ヒトとウシ、ウサギとラットアルブミンがそれぞれ類似していることが判明した。PB のドッキングポーズから、カルボキシル基は、Arg, Tyr 及び Lys と相互作用していたが、その組み合わせは動物種により異なっていた。また、アルキル側鎖及びフェニル基は、Leu, Ile, Phe 及び Val で構成される疎水性領域に位置していた。ヒト及びウシアルブミンにおいては、結合定数及びドッキングエネルギーより、明確な結合サイトの至適サイズの存在が示唆された。これらの結果から、動物種アルブミンにおける結合サイトのサイズや電荷、疎水性など、いわゆるマイクロ環境の差異が、PB の結合における種差の要因であると推察された。

以上のように、アルブミンのサイト II における PB の結合様式、さらにその結合特性を含む”静的及び動的情報”が本研究によって解明された。また、PB のタンパク結合における種差についても明らかとなり、適応拡大を視野に入れた動物実験データの解釈やヒトへの外挿の際に有益な情報を得ることができた。しかしながら、PB の代謝における種差や PB 誘導体の代謝経路についての情報は限られており、これらに関する新たな知見が得られれば、PB 及びその誘導体の臨床応用の可能性がより広がるであろう。本研究は、多様な薬効を有する PB 及びその誘導体のヒトにおける薬物動態及び薬理効果の理解という点で、様々な疾患治療へ臨床応用される際の有用な基礎資料になると考えられる。