

アリピプラゾールのヒト血清アルブミン結合に関する構造化学的研究

臨床薬学第一講座 櫻間 啓基

アリピプラゾール (Aripiprazole : ARP) はドパミン D_2 およびセロトニン受容体に部分作動する非定型抗精神病薬であり、統合失調症やうつ症状など精神疾患の治療に用いられている。そのタンパク結合率は 99% を超え、主な結合担体はヒト血清アルブミン (HSA) である。ARP の HSA へ結合特性や疾患に伴うアルブミンの構造修飾が薬物結合に与える影響は十分に解明されておらず、本研究では ARP の HSA 結合様式を分子レベルで解析し、酸化・糖化など病態変化による結合能の変動を明らかにすることを目的とした。

平衡透析法を用いた研究により、ARP は HSA と 1 対 1 の複合体を形成し、高い結合定数を示した。脱塩素誘導体との比較では、フェニル基 3 位に位置する塩素原子が強い結合親和性の維持に必須であることが明らかとなり、CD スペクトル解析によりこの塩素原子が配向性を決定することが示唆された。

結合阻害実験では、ワルファリン (サイト I 結合薬) による影響はみられず、イブプロフェンやジアゼパム (サイト II 結合薬) により結合が阻害されたことから、ARP は HSA のサイト II に結合していることが示唆された。部位特異的変異体を用いた解析では、Tyr411 を置換すると結合能が著しく低下し、この残基が結合に関与することが明らかとなった。X 線結晶構造解析により、ARP はサイト II の疎水性ポケット内に位置し、Tyr411 との π - π 相互作用および Cys392 とのハロゲン結合を形成していることが確認された。これらの結果から、ARP の 3 位塩素原子が HSA との結合に重要な役割を果たしていると考えられる。

次に、酸化および糖化により修飾した HSA を用いて病態時の影響を評価した。酸化処理によりカルボニル含量が増加し、ARP の非結合率が上昇した。糖化 HSA でも同様の傾向を示し、Arg410、Tyr411、Lys414 残基の酸化・糖化修飾が結合低下の主因であると推察された。また、インドキシル硫酸およびオクタン酸はサイト II で競合的に ARP 結合を阻害し、ビリルビンやミリスチン酸はアルブミンの構造変化を介したアロステリック効果により結合を減弱させた。

以上の結果より、ARP は HSA のサイト II に高親和的に結合し、その結合は 3 位塩素原子が重要であることが明らかとなった。さらに、疾患関連修飾や内因性物質の蓄積により結合が低下することが明らかとなった。本研究は、疾患時における血中遊離型薬物の変動や薬効差及び副作用を理解する上で重要な分子基盤を示すと考えられる。

機械学習によるヒト血清アルブミン-薬物結合ポーズ予測モデルの構築

臨床薬学第二講座 興梠 靖幸

ヒト血清アルブミン (HSA) は血中で最も豊富なタンパク質であり、多様な薬物や内因性物質と可逆的に結合する。これまでに X 線結晶構造解析などにより HSA との結合ポーズが判明している薬物は数十種類に限られ、網羅的なデータベースは存在しない。そのため、薬剤師が臨床で薬物の吸収・代謝・排泄を考慮した介入を行う一方で、薬物の分布の観点からの介入、特に血漿タンパク結合に基づく介入は十分とはいえない。そこで本研究では、既存の構造データと計算化学的手法を統合し、HSA-薬物結合ポーズを予測する機械学習モデルの構築を目的とした。

HSA と単一リガンドの複合体構造が報告されている 29 リガンドを対象にドッキングシミュレーションを実施し、各リガンドにつき 10 ポーズおよびそれぞれのドッキングスコアを取得した。さらに、分子記述子を算出し、各ポーズを初期構造とした短時間の分子動力学シミュレーション (MDS) を行い、動的な情報を抽出した。これらを特徴量として機械学習アルゴリズム LightGBM を用い、(1) ドッキングスコアのみ、(2) スコア+分子記述子、(3) スコア+MDS 由来特徴量、(4) スコア+分子記述子+MDS 特徴量の 4 条件でモデルを構築した。結晶構造に対するリガンドの二乗平均平方根偏差 (RMSD) が 2.5 Å または 5.0 Å 以内のポーズを正解とし、それ以外を不正解としたうえで、リガンドごとの Leave-One-Out クロスバリデーションにより評価した。

RMSD 2.5 Å 閾値では有意差を認めなかったが、5.0 Å 閾値では (1) に比べ (2) ~ (4) が有意に高い PR-AUC を示した ($p=0.02\sim 7\times 10^{-11}$)。特に (4) 条件では ROC-AUC 0.828 ± 0.021 、PR-AUC 0.747 ± 0.025 と最良の性能を示した。特徴量重要度解析では、ドッキングスコアに加え、MDS から得られたタンパク質-リガンド相互作用指標 (PLIF)、相互作用エネルギー、エントロピー関連指標が上位を占めた。静的なドッキングスコアに動的な情報を組み合わせることでモデルの予測精度が向上することが示唆された。

本研究で得られたモデルは、従来のドッキングシミュレーションを上回る精度で HSA-薬物結合ポーズを予測可能であり、分布領域における薬物間相互作用リスク推定への応用が期待される。今後はモデルの高精度化と汎用化を進め、得られた予測データベースを用いて尿毒症物質により結合置換される薬物のスクリーニングや *in vitro* 検証、さらには臨床応用を目指す。

植物に含まれる成分が明らかになるまで～不知火菊、葛を例に～

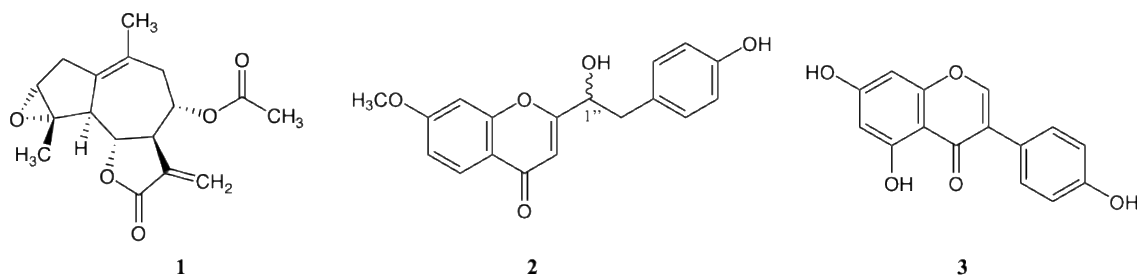
衛生薬学講座 甲斐 久博

演者の研究テーマの一つは「ものとり」である。例えば、コーヒー豆の眠気覚まし成分がカフェインであることが明らかにされたように、植物中の薬理活性成分を単離し、その構造を明らかにすることを目的としている。医薬品開発の原点となる化合物は、依然として植物に多く潜んでいると考えられている。ときに人智を超えた複雑な構造をもつ化合物に遭遇することが、「ものとり」研究の醍醐味である。一般的な「ものとり」の手順は、植物を溶媒で抽出し、濃縮・乾燥後、各種クロマトグラフィーを用いて分画・精製を繰り返し、化合物を単離する。単離した化合物は、質量分析（MS）および核磁気共鳴（NMR）測定等により構造式を明らかにする。本日は、演者が本学に着任して17年間取り組んできた「ものとり」研究を振り返り、わずかな結果しか出せていないという反省を込めた懺悔的プレゼンテーションとしたい。

まず、不知火菊の花部から単離した **arteglasin A (1)** を紹介する。本研究は株式会社再春館製薬所との共同研究の成果であり、炎症性タンパク質 **Angiopoietin-like protein 2 (ANGPTL2)** の抑制活性を指標として、植物の選抜・抽出・精製を行った結果、得られた化合物である。NMR スペクトルを見た瞬間は「これは楽勝だ」と感じたが、実際に構造解析を進めてみると予想以上に難解であった。最終的には X 線結晶構造解析を適用し、同定に至るまでに約3年を要した。

次に、生薬カッコン（葛根）から単離した **lobatchrosin (2)** を紹介する。演者は成人 T 細胞白血病（ATL）の細胞増殖抑制活性を指標に、あらゆる植物から活性化合物の探索している。当初、イソフラボン類の **genistein (3)** が ATL に対し優れた活性を示すことが知られていたため、イソフラボン類を豊富に含むカッコンも有効性を示すと仮説を立てて本研究を開始した。しかし、活性成分を追いかけたところ、イソフラボン類ではない **2** にたどり着いた。

以上、単離した化合物の数は少ないが、1つ1つに思い出がある。「ものとり」は宝探しに例えられるが、得られた化合物はまさに大切な宝物であり、化粧品・医薬品開発へとつながる希望である。演者の研究成果が医薬品開発に引用され、延岡・九州医療科学大学薬学科に **en** があつたと振り返ってもらえることを夢見ている。



血管機能に対する血管内皮と血小板の相互作用に関する研究

薬理学第二講座 松本 貴之

糖尿病、高血圧症、脂質異常症といった生活習慣病は、中高年において罹患率の高い疾患であり、さらに人口の高齢化も加わり、我が国においてこれら生活習慣病の合併症である心・血管関連イベントが増加している。これから少子高齢化社会を迎える我が国にとって、心・血管関連イベントに関わる動脈硬化病変をより早期に捉え、進展する前に予防・治療を行うことは、個人の **quality of life** の向上という面のみならず医療経済面からも重要な課題となっている。近年では、動脈の硬化巣形成に先立ち、血管の内腔、つまり血液と接する部位に存在する血管内皮細胞の機能障害が先行することが証明され、血管内皮細胞は、動脈硬化の発症・進展抑止のターゲットとされている。血管内皮細胞は、刺激に応じて種々の内皮由来因子（血管平滑筋を弛緩させる因子や収縮させる因子）を放出し、血管緊張を巧妙に調節している。弛緩因子として、太い動脈では一酸化窒素の寄与が大きく、径が小さくなるにつれ内皮由来過分極因子の寄与が大きくなるといったように、内皮由来因子による血管機能の調節は血管部位で異なることが明らかとされているが、生活習慣病時でのこれらの種類、産生・分泌量、シグナル伝達、さらにはこれらの変調を来す原因については不明な点が多い。一方、血小板は、出血の際に凝集することによって止血されることが主な役割であるが、血管内皮細胞を維持するための物質の供給や、炎症、免疫、感染制御といった生体反応のみならず、動脈硬化の形成にも関与すると考えられている。しかし、血小板ならびに血小板から放出される物質の血管機能への直接的影響については未だ不明な点が多い。そこで今回は、昨年より本学に着任してから着手したプロジェクトの一つである、血小板から放出されることで知られている **regulated-upon-activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES, 別名 C-C chemokine ligand 5)** の血管機能へ及ぼす影響を検討した成果を中心に紹介する。

ヒト冠動脈バイパス血管の長期開存を目指した薬理的検討

薬理学第一講座 鳥取部 直子

冠動脈疾患の主な外科的手術として冠動脈バイパス手術が行われる。バイパス手術で使用する血管の術中および術後のれん縮の防止と術後の血栓性狭窄の軽減が、グラフト血管の長期開存率の向上と予後の良好な長期成績結果をもたらす。これまでに我々は、グラフト血管の長期開存を目指すことを目的として、血小板由来の生理活性物質の一つであるセロトニン(5-HT)に着目し検討を行ってきた。ヒト内胸動脈において、セロトニン 5-HT_{2A} 受容体およびセロトニン 5-HT_{1B} 受容体の発現を確認し、血管れん縮に関与していることを見出した。また、内胸動脈を使用する冠動脈バイパス手術の術中および術後の血管れん縮予防には、セロトニン 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬に加えてセロトニン 5-HT_{1B} 受容体拮抗薬の併用が有用となる可能性を明らかにした。さらに、糖尿病患者のバイパス血管の収縮反応が非糖尿病患者と比べて増大していることを見出している。この反応性増大には、血管平滑筋細胞におけるミオシン軽鎖脱リン酸化酵素の障害および血管平滑筋細胞膜上のセロトニン 5-HT_{2A} 受容体やアンジオテンシンII AT₁ 受容体の増加が原因であることも併せて報告している。これらヒト血管における 5-HT およびノルアドレナリン (NAd) 誘発収縮反応に対する血管れん縮抑制薬 (Rho キナーゼ阻害薬) の影響について検討したところ、Rho キナーゼ阻害薬は、大伏在静脈よりもむしろ内胸動脈において、5-HT による収縮を強く抑制し、また、大伏在静脈においては、NAd による収縮を強く抑制することを見出した。重症の冠動脈疾患には冠動脈バイパス手術が適用されるが、糖尿病患者においては、移植される血管のれん縮や狭窄が生じやすく、手術の成功率が低いことが知られている。現在のところ、術中の血管れん縮を防止するために、強制的に血管弛緩をもたらす薬剤を塗布する等、緊急的な対策は講じられているものの、血管への傷害作用から、有用で確実性の高い薬剤は少ない。グラフト血管に対する薬理学的特性を明らかにし、長期開存へと繋げていきたい。