

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：53101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K19926

研究課題名（和文）アルブミンへの結合を促進する特殊アミノ酸の発見

研究課題名（英文）Discovery of nonnatural amino acids promoting albumin binding

研究代表者

和久井 直樹（Wakui, Naoki）

長岡工業高等専門学校・電気電子システム工学科・准教授

研究者番号：80786038

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：アルブミンと環状ペプチド医薬品として上市されているダルババンシンの複合体構造を世界で初めて明らかにし、ダルババンシンが有する炭化水素鎖および環構造の両方が複合体形成において重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、Protein Data Bankに登録されているアルブミンと化合物の複合体構造を対象に、アルブミンに結合する化合物の物理化学的特徴をアルブミンの結合部位ごとに整理した。さらに、チロシン残基を特殊アミノ酸に置換した環状ペプチドの血漿タンパク質結合率を調査した。チロシン残基を特殊アミノ酸に置換することで血漿タンパク質結合率が改善するところを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新たな創薬モダリティとして注目を集める環状ペプチドであるが、薬物動態に大きな影響を与えるアルブミンとの結合様式はわかっていなかった。本研究で明らかにしたアルブミンとダルババンシンの複合体構造はアルブミンと環状ペプチドの結合様式に関する知見を与えたという点で学術的意義がある。また、環状ペプチドのチロシン残基を特殊アミノ酸に置換することで血漿タンパク質結合率が改善する可能性を見出したことは、今後の環状ペプチド医薬品開発に重要な知見を与えるものである。これらの成果は、効果的な薬物動態プロファイルを有する環状ペプチド医薬品の設計に寄与することが期待される。

研究成果の概要（英文）：The complex structure of albumin and dalbavancin, a cyclic peptide drug marketed as a pharmaceutical product, was elucidated for the first time in the world. It was revealed that both the hydrocarbon chain and the cyclic structure of dalbavancin play important roles in the formation of the complex. The complex structures of albumin and compounds registered in the Protein Data Bank were investigated. The physicochemical characteristics of compounds binding to albumin were examined for each binding site of albumin. Focusing on hydrophobicity, the plasma protein binding rates of cyclic peptides in which tyrosine residues were replaced with nonnatural amino acids were investigated. It was found that replacing tyrosine residues with nonnatural amino acids can improve the plasma protein binding rate in some cases.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：環状ペプチド 特殊アミノ酸 アルブミン 血漿タンパク質結合率

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、環状ペプチドが国内外の製薬企業からの注目を集めている[Zorzi2017, Morrison2018]。環状ペプチドが注目されるのは、①低分子化合物のように経口投与可能であること、②抗体医薬品のように標的タンパク質に非常に強く結合できること、③タンパク質間相互作用面に代表されるような平坦で浅い相互作用面に結合できること、④数週間でヒット化合物が得られることという特徴を有しているからである。しかし、環状ペプチドを医薬品として仕上げる為には克服すべき課題がある。体循環血液に乗った環状ペプチドは腎臓で急速にろ過され体外へと排出される[Vinogradov2019]。腎排出を回避するには血漿中に含まれるタンパク質-アルブミンへの結合が鍵となるが、環状ペプチドはアルブミンに結合しにくい。さらに、探索空間が広すぎるためアルブミンへの結合能の改善が困難である。つまるところ、現在の環状ペプチド創薬にはアルブミンへの結合能を改善する具体的な戦略がないと言える。

### 2. 研究の目的

本研究ではアルブミンに結合する化合物の構造的特徴を明らかにし、構造的特徴を有する特殊アミノ酸を含む環状ペプチドのアルブミン結合能が改善されるかどうかを検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 3.1. アルブミンに結合する化合物の構造的特徴の調査

Protein Data Bank に登録されている 94 種類のアルブミンと化合物の複合体構造を解析対象とし、アルブミンに結合する化合物のアクセプター数、ドナー数、脂溶性、極性表面積、分子量をオープンソースのケモインフォマティクスソフトウェア RDKit を用いて算出した。アルブミンには複数の化合物結合部位が知られており、結合部位ごとに化合物の物理化学的特徴量を整理した。

#### 3.2. ヒト血清アルブミンとダルババンシンの複合体構造解析

X線結晶構造解析は日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業「創薬等ライフサイエンス研究のための相関構造解析プラットフォームによる支援と高度化 (SPRING-8/SACLA)におけるタンパク質立体構造解析の支援および高度化 (JP20am0101070)」の支援を受けて実施した。また、ヒト血清アルブミンとダルババンシンの結合における物理化学的解析は同事業「リード創薬を志向した物理化学的品質評価技術の開発と支援 (JP20am0101094)」の支援を受けて実施した。

#### 3.3. 特殊アミノ酸を含む環状ペプチドの血漿タンパク質結合アッセイ

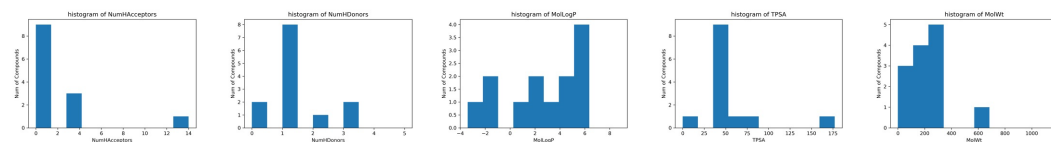
これまでの知見に基づき、キシダ化学株式会社が提供する非天然型アミノ酸カタログの中から特殊アミノ酸を選定した。2018年に血漿タンパク質結合アッセイを実施した[Tajimi2018]際に設計した天然アミノ酸のみで構成される環状ペプチドに、選定した特殊アミノ酸を導入した環状ペプチドを新たに設計した。設計した環状ペプチドは Pharmaron, Inc.にて合成および血漿タンパク質結合アッセイを実施した。

### 4. 研究成果

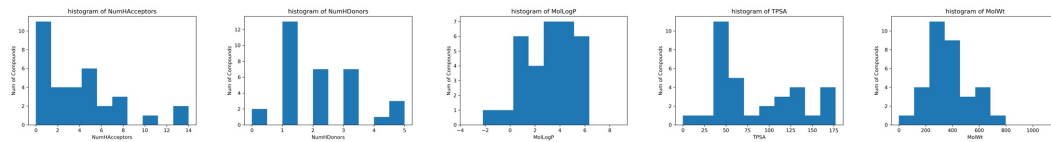
#### 4.1. アルブミンに結合する化合物の構造的特徴の調査

アルブミンの化合物結合部位はそれぞれ IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB, cleft と呼ばれている。IIA に結合する化合物はアクセプター数、ドナー数、脂溶性、極性表面積、分子量において幅広い分布となることがわかった (図 1)。結合部位によらず、アクセプター数が 4 以下となる化合物が多いことがわかった。また、極性表面積が 50 前後となる化合物が多いことがわかった。環状ペプチドは分子量 1000 以上となることが多いが、分子量が 1000 以上の化合物は IIA もしくは cleft に結合していることがわかった。

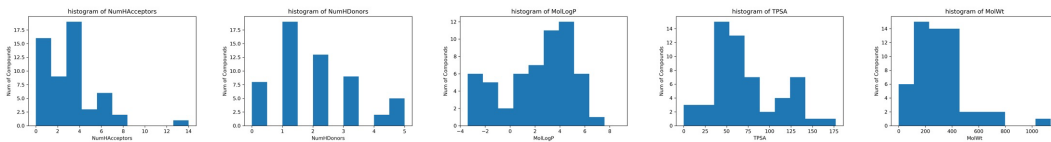
### Binding site IA



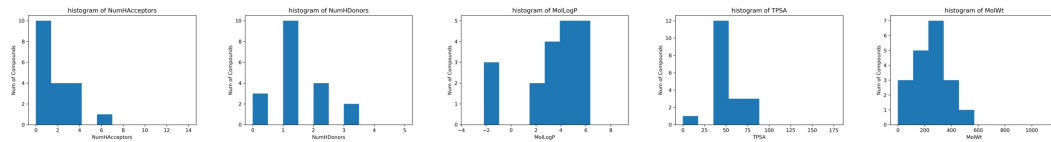
### Binding site IB



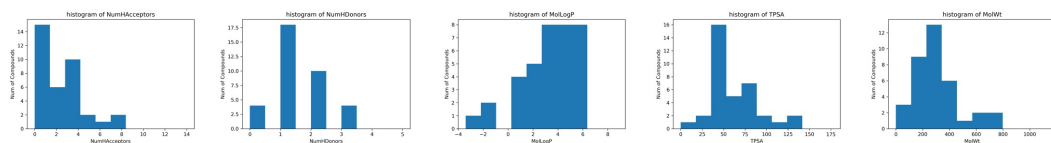
### Binding site IIA



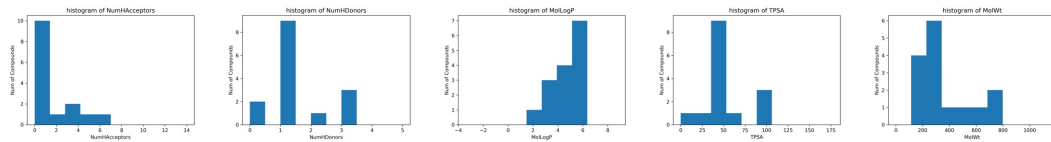
### Binding site IIB



### Binding site IIIA



### Binding site IIIB



### Binding site cleft

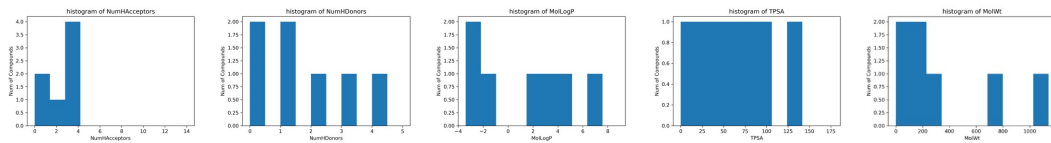


図 1. 結合部位ごとの化合物の特徴

#### 4. 2. ヒト血清アルブミンとダルババンシンの複合体構造解析

構造解析の結果、ダルババンシンは一般的な化合物結合部位とは異なる部位に結合していることが明らかになった。ダルババンシンの疎水性領域である炭化水素鎖はヒト血清アルブミンの疎水性ポケットに深く挿さるように結合していた。一方で、ダルババンシンの環状領域は、ヒト血清アルブミンの表面を覆うように結合し、相互作用面積を増加させつつ、かつ多くの水素結合を形成することで、ヒト血清アルブミンに強く結合していることが明らかになった(図2)。

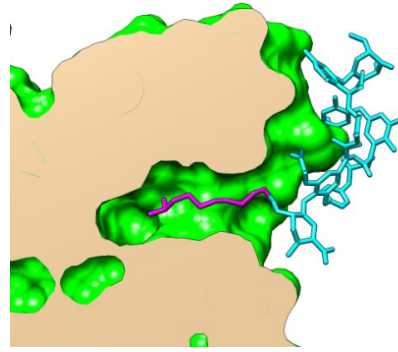


図2. ダルババンシン結合部位

#### 4. 3. 特殊アミノ酸を含む環状ペプチドの血漿タンパク質結合アッセイ

比較対象となる天然アミノ酸のみで構成される8残基と7残基の環状ペプチド、チロシン残基を特殊アミノ酸に置き換えた8残基と7残基の環状ペプチドの合計4種類の環状ペプチドを合成した(図3)。合成した環状ペプチドに対して血漿タンパク質結合アッセイを実施した。7残基の環状ペプチドにおいては、特殊アミノ酸の導入によって血漿タンパク質結合率が20.7%から13.6%に低下する結果となった。一方、8残基の環状ペプチドにおいては、特殊アミノ酸の導入によって血漿タンパク質結合率が20.7%から33.1%に向上する結果が得られた。

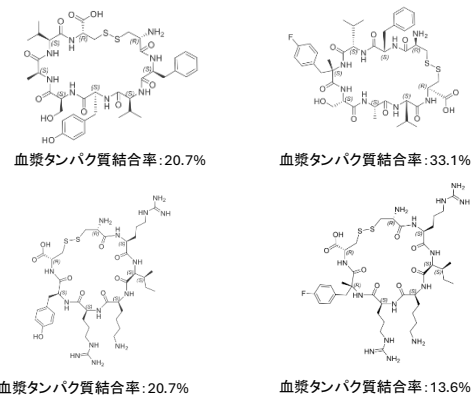


図3. 設計した環状ペプチドの構造と血漿タンパク質結合率

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ito Sho, Senoo Akinobu, Nagatoishi Satoru, Ohue Masahito, Yamamoto Masaki, Tsumoto Kouhei, Wakui Naoki	4. 巻 63
2. 論文標題 Structural Basis for the Binding Mechanism of Human Serum Albumin Complexed with Cyclic Peptide Dalbavancin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 14045 ~ 14053
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jmedchem.0c01578	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

環状ペプチドのヒト血清アルブミンに対する結合様式を解明 環状ペプチド創薬の加速に期待 <a href="https://www.amed.go.jp/news/release_20201113-02.html">https://www.amed.go.jp/news/release_20201113-02.html</a>
---

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------