

# 29S-am06

ビタミン D 受容体における DLAM のアンタゴニスト活性メカニズムの構造学的  
解明

○浅野 理沙<sup>1</sup>, 桑原 直之<sup>1</sup>, 阿部 瑠美<sup>2</sup>, 永井 優<sup>2</sup>, 長澤 和夫<sup>2</sup>, 清水 敏之<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>東大薬, <sup>2</sup>農工大工)

【目的】核内受容体の一種であるビタミン D 受容体(VDR)は、内因性リガンドである活性型ビタミン D3 結合に伴う転写活性化を介して、カルシウム代謝調節機構や細胞の分化・誘導など様々な生体内の機能に関与している。VDR のアンタゴニストメカニズムを原子レベルで解析することは、アゴニスト活性のメカニズムの解明に有用な情報を与えるのみならず、VDR シグナルの過剰亢進による骨パジェット病や高カルシウム血症の治療薬化合物の分子設計につながると考えられている。しかしこれまでに VDR のアンタゴニスト化合物との複合体構造はほとんど解かれておらずいまだ明らかでない点が多い。そこで本研究では、アンタゴニスト活性を示す化合物 DLAM を用いた構造解析を行った。

【方法】精製した ratVDR ligand binding domain を用いて ITC 測定及び結晶構造解析を行った。結晶化はリガンド-SRC1 由来 coactivator peptide-VDR の三者複合体で行った。

【結果・考察】VDR はリガンド結合に伴って、Helix12 が安定に折りたたまれ、coactivator が結合したアゴニストフォームをとる。しかし DLAM 結合時においては、VDR の coactivator への親和性が大きく減少していることを ITC 測定によって明らかにした。更に X 線結晶構造解析を行ったところ、最もアンタゴニスト活性の強い DLAM4P では、リガンド認識に重要な水素結合を形成している His301(Helix6-7 loop)付近の大きな構造変化に伴うアゴニストフォームの不安定化が見られた。これにより、His301 とリガンドとの水素結合及び、アゴニストフォームで見られる His301, Thr302(Helix7), Gln396(Helix10)間の水素結合が形成されなくなっており、これら水素結合の減少がアンタゴニスト活性につながったと考えられる。以上により、DLAM 結合に伴う His301 付近の構造不安定化による水素結合の減少が、活性に必須の Helix12 付近の不安定化を招き、coactivator のリクルートを妨げているのではないかと考えて現在研究を進めている。