

## 新型コロナウイルスや鳥インフルエンザ感染の鍵となる プロテアーゼと阻害剤の複合体構造を決定



国立大学法人  
徳島大学



相模女子大学

徳島大学大学院医歯薬学研究部の真板(大野)綾子研究員(現 株式会社キュライオ主任研究員)、二川健教授、先端酵素学研究所の真板宣夫准教授(現 放射線医学総合研究所研究員)らは相模女子大学大学院栄養科学研究科の奥村裕司教授と共同で新型コロナウイルスや鳥インフルエンザのウィルス感染の際に働くプロテアーゼ(MSPL)と阻害剤の結晶構造を初めて報告しました。この成果は4月5日にLife Science Allianceにオンライン掲載されました。

### 【学術誌等への掲載状況】

Crystal structure of inhibitor-bound human MSPL that can activate high pathogenic avian influenza

Ayako Ohno, Nobuo Maita, Takanori Tabata, Hikaru Nagano, Kyohei Arita, Mariko Ariyoshi, Takayuki Uchida, Reiko Nakao, Anayt Ulla, Kosuke Sugiura, Koji Kishimoto, Shigetada Teshima-Kondo, Yuushi Okumura and Takeshi Nikawa  
Life Science Alliance 採択済み

### (研究の背景)

インフルエンザや新型コロナウイルスが感染する際にはウィルス表面にある糖タンパク質がヒトの気道表面にあるプロテアーゼによって切断され、感染型に変換することが必要です。ヒトのプロテアーゼは多種類ありますが、インフルエンザではヘマグルチニン(HA)、新型コロナではスパイクタンパク質がフォーリンやⅡ型膜貫通型セリンプロテアーゼ(TTSP)によって切断されます。

多くのセリンプロテアーゼはアルギニン残基の直後を切断しますが、アルギニン残基の上流の3残基がリジン/アルギニンに富む配列(マルチベーシック)の場合、フォーリン、PC5/6及びTTSPファミリーであるMSPLのみがこれを切断することが出来ます。マルチベーシック配列は主に高病原性鳥インフルエンザのHAで見られ、もし高病原性鳥インフルエンザが人で流行した場合、フォーリンやMSPLによるHAの切断を抑えることが感染防止に重要です。マルチベーシック配列の認識機構の解明及び特異的な阻害剤の設計には詳細な立体構造解析が欠かせません。しかし、MSPLや類似タンパク質はこれまで構造が不明でした。

### (研究内容と成果)

我々はMSPLがマルチベーシック配列をどのように認識しているかを明らかにするために、MSPLの細胞外領域全体と阻害ペプチドとの複合体結晶構造を2.6Å分解能で明らかにしました(図1)。

MSPLの細胞外領域はLDLA、SRCR、SPD3つのドメインから構成され、それぞれがお互いに接してコンパクトな構造をしていました。MSPLの活性部位表面はマイナスの電荷が多く広がっており、リジン/アルギニンは正電荷を持っているため、マルチベーシックに親和性を持つことが確かめられました(図2)。また、MSPLに非常に構造が似ているものの中に新型コロナウイルスのスパイクタンパク質を特異的に切断するTMPRSS2があります(図2)。TTSPファミリーの構造はこのMSPL

が初めての例で、TMPRSS2 の構造はまだ明らかになっていません。そこで我々は MSPL を鋳型にして TMPRSS2 のホモロジーモデルを作り、新型コロナウイルススパイクタンパク質への認識機構を調べました。TMPRSS2 では切断されるペプチドのアルギニン残基の下流が結合する領域の溝が通常より広くなっており（図3）、ペプチドがほどけた状態でも結合することが出来ることが判りました。新型コロナのスパイクタンパク質の切断部位の構造を見ると、アルギニン残基から下流は $\alpha$ ヘリックス構造を取っているため、この切断部位はほどけにくく、TMPRSS2 以外のプロテアーゼでは切断しにくいことが推察されました。

#### （今後の展望）

MSPL の詳細な結晶構造が明らかになったことで、MSPL 特異的な阻害剤の開発が促進されます。さらに今年になって MSPL も TMPRSS2 と同程度新型コロナを活性化させるという論文が複数報告されており(1, 2)、MSPL 阻害剤は新型コロナの有効な薬剤候補となります。また、信頼度の高い TMPRSS2 のモデルを利用して、新たな阻害剤の開発や TMPRSS2 のスパイクタンパク質との結合予測、さらに ACE2 との複合体モデルの構築など、新型コロナに対する有効な治療薬・感染予防薬の開発が進むと期待されます。

#### （その他参考となる事項）

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金及び AMED-CREST「メカノバイオロジ—機構の解明による革新的医療機器及び医療技術の創出」の支援を受けました。

#### 参考文献

1. Kishimoto et al, (2021) Viruses, 13, 384.
2. Hoffmann et al. (2021) EBioMedicine, in press.

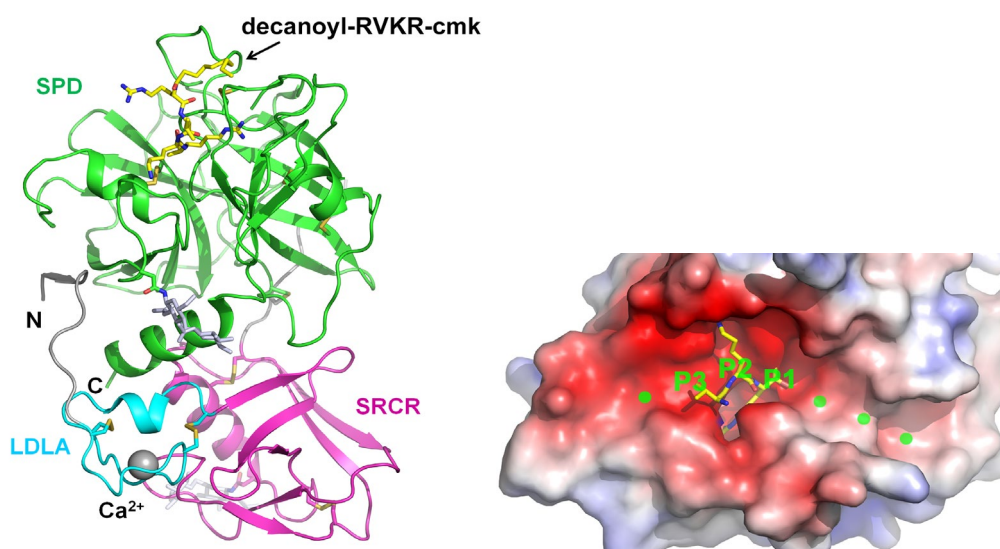


図1 (左) ヒトMSPL細胞外領域の全体構造。3つのドメインをそれぞれ水色 (LDLA)、紫 (SRCR)、黄緑 (SPD) で表す。ペプチド様阻害剤 (decanoyl-RVKR-cmk) をスティックモデルで表す。(右) ヒトMSPLの活性部位表面電荷図。赤は負電荷、青は正電荷を表す。切断ペプチドのアルギニン(P1)-リジン(P2)-バリン(P3)をスティックモデルで、残りの想定される残基の位置を緑の点で表す。

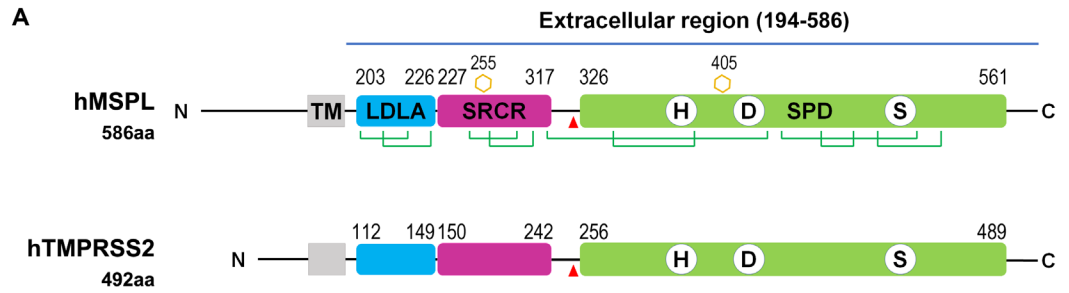
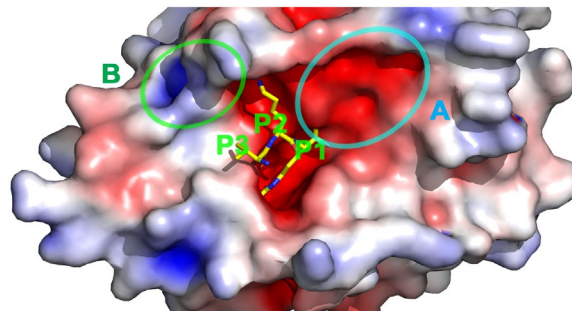


図2 MSPLとTMPRSS2のドメイン構造の模式図。今回ヒトMSPLの細胞外領域(194-586)を構造解析した。H/D/SはSPDの活性残基を、六角形の橙は付加された糖を表す。赤い矢印はMSPLの自己活性化の際の切断箇所を示す。緑の線はジスルフィド結合を表している。TM: 膜貫通ドメイン、LDLA: Low Density Lipoprotein receptor class Aドメイン、SRCR: Scavenger receptor cysteine-rich proteinドメイン、SPD: セリンプロテアーゼドメイン。



hTMPRSS2(model)

図3 ヒトTMPRSS2の活性部位のモデル構造の表面電荷図。アルギニン(P1)の下流が結合する領域(楕円A)がMSPLよりも広がっている。

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

徳島大学大学院医歯薬学研究部生体栄養学分野生体栄養学分野

教授 二川 健

TEL : 088-633-9248

E-mail : nikawa@tokushima-u. ac. jp

相模女子大学大学院栄養科学研究科

教授 奥村 裕司

TEL : 042-749-2345

E-mail : y-okumura@star. sagami-wu. ac. jp

<報道に関すること>

国立大学法人徳島大学 蔵本事務部医学部総務課総務係

TEL:088-633-9116

E-mail : isysoumu1k@tokushima-u. ac. jp

学校法人相模女子大学 学園事務部総務課

TEL : 042-747-9126

E-mail : y-kuroi@star. sagami-wu. ac. jp