



## 哺乳動物細胞におけるタンパク質ジスルフィド結合形成システム

### 1. はじめに

新たに合成された膜タンパク質や分泌タンパク質は、小胞体でジスルフィド結合の導入を伴う酸化のフォールディングを受け、正しい立体構造を獲得する。タンパク質のフォールディングには疎水性相互作用、水素結合などが働くが、とりわけジスルフィド結合は共有結合であるため、細胞外の厳しい環境におけるタンパク質の立体構造維持に重要である。

真核生物におけるタンパク質のジスルフィド結合の形成は主として基質にジスルフィド結合を導入する protein disulfide isomerase (PDI) と PDI を再酸化する酵素 Ero1 により行われると考えられてきた。しかしながら最近、Ero1 以外の PDI 酸化酵素が相次いで報告され、高等動物細胞の小胞体にはジスルフィド結合形成のための複数の酸化経路が張り巡らされているという新たな概念が確立されつつある。本稿では、新規に見つかった哺乳動物小胞体における酸化経路とそれを構成する因子の構造と生理的機能について概説する。

### 2. 真核生物におけるジスルフィド結合の形成について

小胞体は他の細胞内小器官に比べ酸化環境にあり、タンパク質のジスルフィド結合の形成が促進される。膜タンパク質や分泌タンパク質の約 1/3 は小胞体でジスルフィド結合の導入を伴う酸化のフォールディングを受けると言われており、その基質には生物学的、医学的に重要な免疫グロブリンや、インスリン、血液凝固因子などが知られている。酸化のフォールディング基質の一つ免疫グロブリン M (IgM) が 5 量体の成熟型 IgM になるには、約 100 本ものジスルフィド結合が導入されなければならない。驚くべ

きことに IgM の酸化のフォールディングが行われる抗体産生細胞では、一つの細胞あたり 1 秒間に 1,000 分子もの 5 量体 IgM が合成・分泌される<sup>1)</sup>。従って、小胞体におけるジスルフィド結合形成は極めて迅速に進行し、その触媒システムの存在は生命活動を行う上で重要である。

免疫グロブリンやインスリン等の基質タンパク質へのジスルフィド結合の導入は PDI ファミリータンパク質によりなされる。PDI ファミリータンパク質は少なくとも一つのチオレドキシシン様ドメインを含む小胞体局在性タンパク質であり、哺乳動物には約 20 種類存在する。その多くはチオレドキシシン様ドメイン内にジスルフィド結合の導入・還元・異性化に関わる活性部位 CXXC モチーフをもつ。基質へのジスルフィド結合導入に際して PDI ファミリータンパク質の活性部位は還元されるので、別の基質タンパク質にジスルフィド結合を導入するためにはその活性部位は再酸化されなければならない<sup>2)</sup>。PDI は 1960 年代に発見されていたのに対し、PDI 再酸化酵素は長らく不明であったが、1998 年、アメリカの二つのグループにより PDI 再酸化酵素 ER oxidoreductin-1 (Ero1) が同定された<sup>3,4)</sup>。Ero1 は酵母からヒトまで進化的に保存されており、酵母では Ero1p のみが存在する一方で、ヒトでは Ero1 $\alpha$ 、Ero1 $\beta$  の 2 種類のパラログが存在する。Ero1 $\alpha$  と  $\beta$  の機能的な違いは明らかとなっていないが、Ero1 $\alpha$  は広範な組織に発現しているのに対し、Ero1 $\beta$  は膵臓など分泌組織特異的に発現していることが知られている。酵母では Ero1p を欠損させると酸化のフォールディングが進まず構造異常タンパク質が蓄積し、小胞体ストレスが生じた結果、細胞死に至る<sup>3,4)</sup>。しかし驚くべきことに、Ero1 $\alpha$ 、 $\beta$  ダブルノックアウトマウスは正常に発生・生育し、さらには IgM の酸化のフォールディングにも全く影響が見られないということが、一昨年 Ron らのグループにより報告された<sup>5)</sup>。この結果から、哺乳動物には Ero1-PDI 経路以外のジスルフィド結合形成経路が存在することが示唆された。実際、この報告と前後して哺乳動物には Ero1 以外の PDI ファミリータンパク質に対して酸化能を持つ 4 種類の酸化酵素 (Prx4, VKOR, Gpx7/8) が相次いで報告された<sup>6-9)</sup>。以上の知見から、哺乳動物細胞には当初考えられていたよりもはるかに複雑なジスルフィド結合形成のためのネットワークが存在するであろうと考えられるに至っている。

### 3. Ero1-PDI 酸化経路について

Ero1 は活性中心に FAD が結合したフラビン酵素であり、発見が早かったという経緯もあり、先に挙げた 4 種類

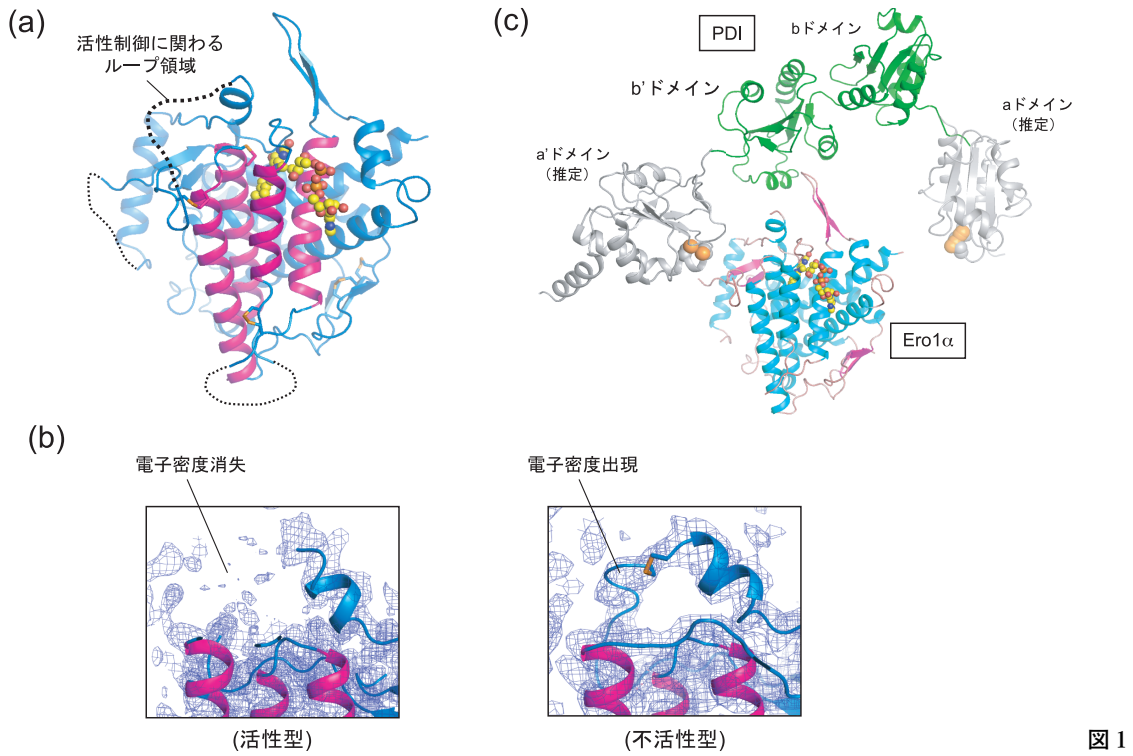


図 1

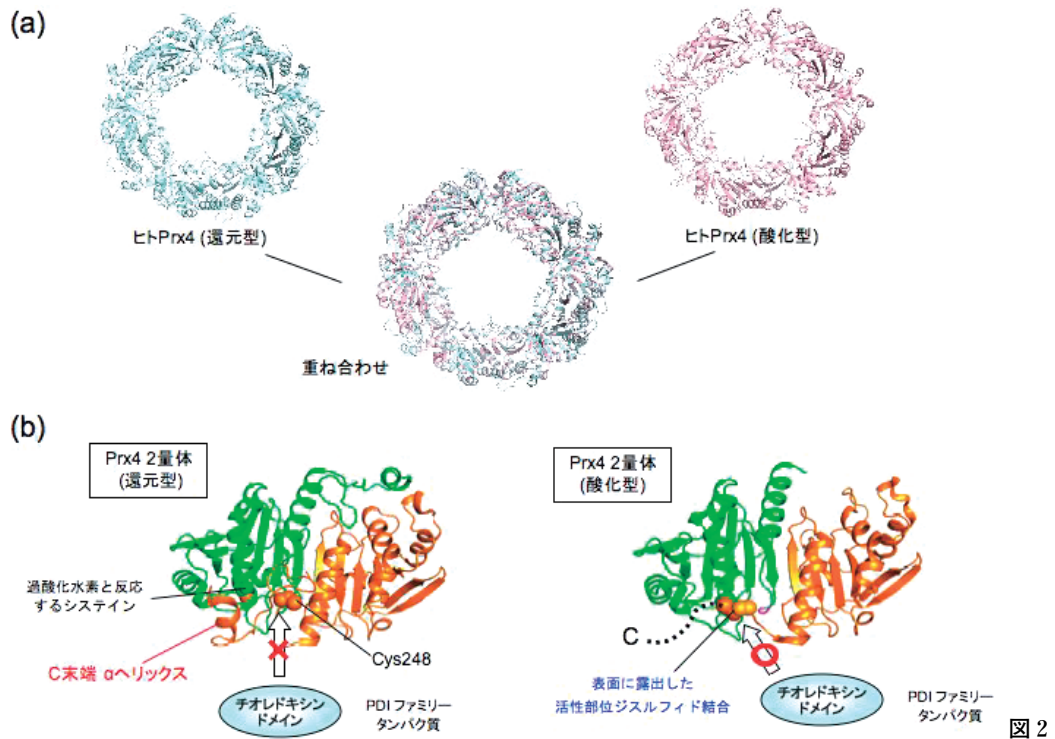


図 2

のPDI酸化酵素と比べ構造機能解析が格段に進んでいる。Ero1がPDIを酸化するとEro1はPDIから二電子を受け取り、この二電子はFADを介して最終的にO<sub>2</sub>へと受け渡される。その結果、酸化ストレスの要因となり得る過酸化水素が生じる。そのため、Ero1には非触媒システイン間のジスルフィド結合の架け換えにより自身の活性を制御するフィードバック機構が存在する。2010年に我々により活性型と不活性型のヒト由来Ero1 $\alpha$ の結晶構造が解かれ、分子構造レベルでEro1 $\alpha$ の活性制御機構が明らかとなった<sup>10)</sup>。Ero1 $\alpha$ は $\alpha$ ヘリックスに富んだ球状構造をしており(図1a)、この全体構造は活性型と不活性型で大きな違いが見られない。Ero1 $\alpha$ の活性制御に関わるシステインはCys94, Cys99, Cys104, Cys131の四つが存在するが、そのうちCys94, Cys99はPDIの活性部位を直接酸化し、FADを含む活性中心に電子をシャトルする機能も兼ねている。構造解析の結果、活性制御に関与するこれら四つのシステインは一つのループ領域に存在することが明らかとなった。活性型ではCys94-Cys99間でジスルフィド結合が形成されるが、不活性型ではCys94-Cys131, Cys99-Cys104間でジスルフィド結合が形成される。活性型Ero1 $\alpha$ と不活性型Ero1 $\alpha$ についてこのループ領域を比較すると、不活性型では電子密度が有意に見られるのに対し、活性型では電子密度が完全に消失し、このループ領域の自由度が大きく増していると考えられる(図1b)。活性制御に関わるループ領域がフレキシブルである活性型Ero1 $\alpha$ はPDIとの親和性が不活性型よりも約3倍強く、このループ領域の自由度の高さがPDIとの結合に重要である。これに加え、PDIからFADを含む活性中心に電子をシャトルする上でも、活性型におけるこのループ領域の高い自由度は必要不可欠であると考えられる。

哺乳動物にはPDIファミリータンパク質は約20種類存在するが、Ero1はPDIのみを特異的に酸化する。PDIは活性部位CXXCモチーフを持つ二つの触媒ドメイン(a, a'ドメイン)とCXXCモチーフを持たない二つの非触媒ド

メイン(b, b'ドメイン)から構成され、a-b-b'-a'の順で四つのチオレドキシ様ドメインが並んだU字形の構造をとる。PDIファミリータンパク質ERp57はPDIと同様のドメイン構造を持つにもかかわらず、Ero1による酸化をほとんど受けない。PDIとERp57のアミノ酸配列と構造をドメイン単位で比較すると、触媒ドメイン(a, a'ドメイン)のアミノ酸配列の相同性は約50%であるのに対し、非触媒ドメイン(b, b'ドメイン)では相同性は約20%と低い。さらに重要なことに、PDIは基質タンパク質との結合に関与すると考えられている疎水性ポケットをb'ドメイン中に持つのに対し、ERp57はこれを持たない。Ero1とPDIの相互作用にはこのb'ドメインが重要で、PDIのb'ドメインをERp57由来のb'ドメインに置換した変異体はEro1との親和性が著しく低下し、Ero1による酸化をほとんど受けなくなる<sup>10)</sup>。さらにEro1 $\alpha$ とPDI b-b'ドメインの構造情報を用いたドッキングシミュレーションの結果、Ero1 $\alpha$ の突出した $\beta$ ヘアピンループとPDIのb'ドメインの疎水性ポケットが特異的に相互作用することが示唆された(図1c)<sup>11)</sup>。この相互作用がEro1 $\alpha$ による効率的なPDI酸化に重要であることは、この領域に位置するアミノ酸の変異体解析によっても確認している<sup>11)</sup>。

#### 4. Prx4について

先に述べたように、Ero1がPDIを酸化する際、過酸化水素が発生する。これに加え、ミトコンドリア呼吸鎖やNADPHオキシダーゼなどの働きによっても過酸化水素が発生することはよく知られている。細胞内には過酸化水素を消去する酵素が存在するが、その主要な酵素の一つがペルオキシレドキシシン(Prx)である。ペルオキシレドキシシンは哺乳動物では6種類のアイソフォーム(Prx1~6)が存在し、Prx1は核と細胞質に、Prx2, Prx6は細胞質に、Prx3, Prx5はミトコンドリアに、Prx4は小胞体にそれぞれ局在する。

2010年RonとBulleidのグループは、Prx4は過酸化水素

図1 ヒト由来Ero1 $\alpha$ の構造

- 活性型Ero1 $\alpha$ の結晶構造(PDB ID: 3AHQ)。
- 活性型および不活性型Ero1 $\alpha$ における、機能制御に関わるループ領域の電子密度。
- ドッキングシミュレーションにより構築されたEro1 $\alpha$ とヒトPDI間の複合体モデル。

図2 ヒト由来Prx4の結晶構造

- 酸化型(PDB ID: 3TJB)及び還元型(PDB ID: 3TJF)Prx4の全体構造とその重ね合わせ。
- 酸化型及び還元型Prx4 2量体の活性部位近傍の構造。

を水へと還元する際、PDIを酸化することを報告した<sup>6,7)</sup>。すなわち、Prx4はPDIから還元力を受け取ることで過酸化水素を代謝することができる。Prx4はEro1と違い、PDIだけでなくPDIファミリータンパク質P5、ERp46、ERp57に対しても酸化活性を示す<sup>7)</sup>。Prx4は2量体が五つ集合したリング状の10量体構造をしており、還元型と酸化型で全体構造に大きな違いは見られない(図2a)<sup>12)</sup>。しかし注目すべきことに、活性部位付近の構造は酸化型と還元型で顕著な違いが見られる。還元型の時、C末端に位置する $\alpha$ ヘリックス領域は過酸化水素と直接反応するシステイン残基を遮蔽しているように見える(図2b)。そのため、PDIファミリータンパク質のチオレドキシンドメインはPrx4の活性部位に近づくことができない。一方酸化型では、C末端 $\alpha$ ヘリックス領域の構造は大きく崩れ、それに伴い活性部位ジスルフィドが表面に露出する(図2b)。これにより、PDIファミリータンパク質のチオレドキシンドメインはPrx4活性部位ジスルフィドに接近でき、Prx4による酸化を効率よく受ける<sup>12)</sup>。以上の構造的知見から、Prx4がPDIファミリータンパク質に対し幅広い基質特異性を示す理由が明らかとなりつつある。

### 5. VKORについて

vitamin K epoxide reductase (VKOR)も、Prx4と同じくPDI酸化酵素であることが2010年に報告された<sup>8)</sup>。ヒトVKORは4回小胞体膜貫通タンパク質であり、ビタミンKエポキシドをビタミンKヒドロキノンに還元する際、膜貫通領域にある活性部位Cys132、Cys135間でジスルフィド結合が形成される。ここで形成されたジスルフィド結合は、小胞体内腔領域にあるCys43とCys51のシステインペアを介してPDIファミリータンパク質に受け渡され、VKOR自身は再び還元型となる。すなわち、VKORはPDIファミリータンパク質から還元力が供給されることでビタミンKエポキシドを効率よく還元すると解釈できる。VKORは、細胞内においてPDIファミリータンパク質の中でもTMX1と強く分子間ジスルフィド結合を形成する。またTMX1ほどではないが、TMX4、ERp18とも分子間ジスルフィド結合を形成すると報告されている<sup>8)</sup>。TMX1、TMX4はともに膜貫通型のPDIファミリータンパク質であり、VKOR自身も小胞体膜貫通型の酸化酵素であることを考慮すれば、VKORがTMX1とTMX4に対し親和性を示すことは当然かもしれない。以上の結果から、VKORがTMX1、TMX4、ERp18に対する特異的な酸化活性を有すると考えられるのに対し、PDIやERp57など他

のPDIファミリータンパク質に対しては酸化活性が極めて低いと予想される。したがって、VKORを起点とする酸化経路は、Ero1やPrx4を起点とする経路と基質特異性や機能的役割が異なると推測される。

### 6. Gpx7/8について

glutathione peroxidase (Gpx)は、Prxと並び、過酸化水素を代謝する代表的な酵素群であり、原核生物、古細菌、真核生物全てに存在する。Prxはチオレドキシンファミリー(あるいはPDIファミリー)タンパク質から還元力を受け取ることで過酸化水素を水へと還元するが、Gpxは通常その還元力を還元型グルタチオンから受け取る。興味深いことに、2011年、小胞体に局在するヒトのGpxファミリータンパク質Gpx7/8が同定された<sup>9)</sup>。*in vitro*での生化学実験から、Gpx7/8はグルタチオンに対する酸化活性をほとんど有さず、代わりにPDI、ERp46、ERp72、P5、ERp57などPDIファミリータンパク質に対して非常に幅広い酸化活性を持つことが示された<sup>9)</sup>。グルタチオンではなくPDIファミリータンパク質と効率よく反応するという意味において、Gpx7/8はGpxファミリー群の外れ者であり、機能的にはむしろPrxファミリーに類似していると解釈できる。また、*in vivo*でGpx7/8はEro1 $\alpha$ と相互作用することが示され、特にGpx7はEro1 $\alpha$ の酸化活性を有意に高めるというデータも報告されている<sup>9)</sup>。Gpx7/8によるEro1 $\alpha$ の活性制御機構とその生理学的意義は今後の興味深い課題である。

### 7. PDIファミリータンパク質の基質特異性について

以上述べたように、Ero1以外のPDI酸化酵素(Prx4、VKOR、Gpx7/8)が相次いで発見され、またこれら酸化酵素がEro1と異なりPDI以外のPDIファミリータンパク質に対して幅広い酸化活性を持つことが示された。新たな酸化酵素の登場により、これまでの高等動物細胞におけるジスルフィド結合形成経路はEro1-PDI経路で行われるという概念が大きく覆された。そして現在、図3に示すジスルフィド結合形成ネットワークが存在すると考えられている。ここで残された重要課題として、どの酸化経路がどの新生タンパク質のジスルフィド結合形成に関与するのか詳細に解明する必要がある。

PDIはこれまで*in vivo*、*in vitro*で免疫グロブリンG(IgG)、チログロブリン、MHCクラスI、アルブミン、トランスフェリン、 $\alpha$ -フェトプロテインといった様々な基質の酸化的フォールディングに関わることが報告されてい

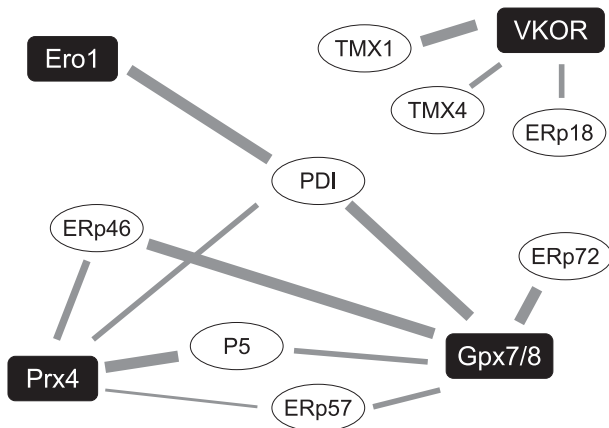


図3 哺乳動物細胞におけるジスルフィド結合形成ネットワーク。これまでに同定されているPDI酸化酵素(白抜き字表示)とPDIファミリータンパク質(黒字表示)間の酸化経路を線で示す。各因子間を結ぶ線の太さは、各PDIファミリータンパク質に対する酸化酵素の酸化活性の強さを表す。

る<sup>13-16)</sup>。また、PDIはBiP, GRP94, ERdj3, P5, ERp72, シクロフィリンB, GRP170, UDP-グリコシルトランスフェラーゼ, SDF2-L1といった分子シャペロンとPDIファミリータンパク質から構成される小胞体シャペロン複合体を形成し、IgGのフォールディングに関わっている可能性が考えられている<sup>13)</sup>。IgG以外の基質についても、この複合体がフォールディングの促進に関与しているのか興味深い。

もう一つの代表的なPDIファミリータンパク質ERp57は、糖タンパク質に特異的なレクチン様シャペロンであるカルネキシンやカルレティキュリンと相互作用する。このことから、ERp57が糖タンパク質の酸化フォールディングに関わるとされている<sup>17)</sup>。実際、これまでERp57の基質として報告されている基質分子チログロブリン、 $\beta$ 1-インテグリンはいずれも糖タンパク質である<sup>15,18)</sup>。一方P5は、活性部位CXXCモチーフを持つ触媒ドメイン二つと非触媒ドメイン一つから構成されるPDIファミリータンパク質である。P5は先述した小胞体シャペロン複合体の構成因子の一つであり、これまでにP5の基質として免疫グロブリンGが知られるのみである。しかし最近、P5はPDIファミリータンパク質の中で最も効率よくPrx4により酸化されるという結果を我々は得ており、今後P5の機能的役割に着目し、その基質を網羅的に解析していくことは重要な課題であろう。以上総括すると、小胞体に約20種類存在するPDIファミリータンパク質は、一部重複した機能を持つものの、個別の酸化還元経路において異なる

基質に対して作用することが十分に推測される。この機能分担において、各PDIファミリータンパク質と協同的に働くパートナータンパク質の存在が極めて重要であることは言うまでもない。

## 8. 今後の展開

本稿では、これまで明らかとされている哺乳動物小胞体のタンパク質ジスルフィド結合形成のための酸化経路について解説した。酸化的フォールディング研究は、一昨年新たなPDI酸化酵素が相次いで報告されたことにより、大きな転換期を迎えたと言っても過言ではない。すなわち、それまでのEro1-PDI経路のみが主として働くという考えから、複数の酸化経路が適度なクロストークを伴いながら複雑なネットワークを形成しているという新たなパラダイムが生まれつつある。当然ながらこれらネットワークは、仮に一つの経路が何らかの要因によりおかしくなったとしても、また別の経路が働くというバックアップシステムを構成している可能性も多分にある。酵母から高等動物に進化する過程において、生命活動維持のためにこのように巧妙複雑な酸化システムを備える必要があったのかもしれない。今後、複数の酸化的フォールディング経路がどのように機能を分担・相補し合っているか重点的に解析し、その全体像を明らかにすることで哺乳動物のタンパク質品質管理機構の理解が深まることが期待される。

- 1) Hendershot, L.M. & Sitia, R. (2004) in *Molecular Biology of B Cells, Immunoglobulin Assembly and Secretion*. (Honjo, T., Alt, F.W., & Neuberger, M. eds.), pp. 261-273, Elsevier Science.
- 2) Ellgaard, L. & Ruddock, L.W. (2005) *EMBO Rep.*, 6, 28-32.
- 3) Pollard, M.G., Travers, K.J., & Weissman, J.S. (1998) *Mol. Cell*, 1, 171-182.
- 4) Frand, A.R. & Kaiser, C.A. (1998) *Mol. Cell*, 1, 161-170.
- 5) Zito, E., Chin, K.T., Blais, J., Harding, H.P., & Ron, D. (2010) *J. Cell Biol.*, 188, 821-832.
- 6) Zito, E., Melo, E.P., Yang, Y., Wahlander, Å., Neubert, T.A., & Ron, D. (2010) *Mol. Cell*, 40, 787-797.
- 7) Tavender, T.J., Springate, J.J., & Bulleid, N.J. (2010) *EMBO J.*, 29, 4185-4197.
- 8) Schulman, S., Wang, B., Li, W., & Rapoport, T.A. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 15027-15032.
- 9) Nguyen, V.D., Saaranen, M.J., Karala, A.R., Lappi, A.K., Wang, L., Raykhel, I.B., Alanen, H.I., Salo, K.E., Wang, C.C., & Ruddock, L.W. (2011) *J. Mol. Biol.*, 406, 503-515.
- 10) Inaba, K., Masui, S., Iida, H., Vavassori, S., Sitia, R., & Suzuki, M. (2010) *EMBO J.*, 29, 3330-3343.
- 11) Masui, S., Vavassori, S., Fagioli, C., Sitia, R., & Inaba, K. (2011) *J. Biol. Chem.*, 286, 16261-16271.

- 12) Cao, Z., Tavender, T.J., Roszak, A.W., Cogdell, R.J., & Bulleid, N.J. (2011) *J. Biol. Chem.*, 286, 42257–42266.
- 13) Meunier, L., Usherwood, Y.K., Chung, K.T., & Hendershot, L. M. (2002) *Mol. Biol. Cell*, 13, 4456–4469.
- 14) Rutkevich, L.A., Cohen-Doyle, M.F., Brockmeier, U., & Williams, D.B. (2010) *Mol. Biol. Cell*, 21, 3094–3105.
- 15) Jeso, B.D., Park, Y., Ulianich, L., Treglia, A. S., Urbanas, M. L., High, S., & Arvan, P. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, 25, 9793–9805.
- 16) Kang, K., Park, B., Oh, C., Cho, K., & Ahn, K. (2009) *Anti-oxid. Redox Signal.*, 11, 2553–2561.
- 17) Williams, D.B. (2006) *J. Cell Sci.*, 119, 615–623.
- 18) Jessop, C.E., Tavender, T. J., Watkins, R.H., Chambers, J.E., & Bulleid, N.J. (2009) *J. Biol. Chem.*, 284, 2194–2202.

佐藤 吉美, 稲葉 謙次

(九州大学生体防御医学研究所蛋白質化学分野)

Protein disulfide bond formation system in mammalian cells  
Yoshimi Sato and Kenji Inaba (Division of Protein Chemistry, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan)  
投稿受付:平成24年2月20日

## ヒト由来ヒスタミン H1 受容体の結晶構造の決定

### 1. はじめに

Gタンパク質を介したシグナル伝達に関与しているGタンパク質共役型受容体(GPCR)は、ヒトに約800種類存在する膜タンパク質である。GPCRは、7本の膜貫通ヘリックス(TM1~TM7)を持つことで知られるが、一次配列や機能により6種類のクラスに分けられ、大半のものがクラスAに属す。GPCRは活性化状態と不活性化状態の平衡状態で存在していると考えられ、基底状態でもある程度の活性を持つ。GPCRのリガンドは効果により3種に分けられ、アゴニストは活性化状態に、インバースアゴニストは不活性化状態に平衡を偏らせる。アンタゴニストは、結合しても平衡状態に影響を与えない。生命に必須の役割を担っているGPCRは多くの疾患に関与し、30%を超える医薬品の標的ともなっている。GPCRの機能を解明するためにも、GPCRを標的とする薬剤を効率良く開発するためにも、GPCRの構造情報は必須であるが、その立体構造を決定することは難しい。そのため、われわれが最近発表

したヒスタミンH1受容体(H1R)<sup>1)</sup>の構造より前には、構造既知のヒト由来GPCRは、 $\beta$ 2アドレナリン受容体<sup>2)</sup>、アデノシンA2a受容体<sup>3)</sup>、CXCケモカイン受容体4(CXCR4)<sup>4)</sup>、ドーパミンD3受容体<sup>5)</sup>だけであった。本稿ではH1Rの結晶構造解析について紹介する。

### 2. ヒスタミン H1 受容体と抗ヒスタミン薬

ヒスタミン受容体は、生体アミンの一種であるヒスタミンを受容するGPCRで、ヒトには機能の異なる4種類のヒスタミン受容体(H1R, H2R, H3R, H4R)が存在する。H1Rは全身に分布し、主に花粉症などのアレルギー反応に関与している。体内にアレルゲンが侵入すると肥満細胞からヒスタミンが放出される。そのヒスタミンが平滑筋や血管内皮細胞などに存在するH1Rに結合するとH1Rは活性化状態に平衡を偏らす。その結果、平滑筋収縮・血管拡張・血管透過性亢進などが引き起こされ、かゆみや鼻水などのアレルギー症状が発生する。一方、脳に発現しているH1Rは、脳内で神経伝達物質として働いているヒスタミンを受容し、睡眠覚醒サイクルの制御や記憶に関与している。

H1Rのインバースアゴニストである抗ヒスタミン薬は、H1Rを不活性化状態で安定化し、アレルギー症状を抑える。抗ヒスタミン薬は、ヒスタミンと同様に正電荷を持ち、ピリラミン、ドキシセピンなどの第一世代と、オロパタジン、フェキソフェナジンなどの第二世代に分類される(図1)。古くから使用されている第一世代抗ヒスタミン薬は、高い中枢移行性と低い受容体選択性のため多くの副作用を示す。高い中枢移行性は分子の疎水性に起因するが、血液脳関門を通過した第一世代抗ヒスタミン薬は、脳内のH1Rの働きを抑制して鎮静作用を示す。また、第一世代抗ヒスタミン薬はムスカリン受容体、セロトニン受容体、アドレナリン受容体などの他のアミン受容体にも結合し、それらの働きを抑制するため、抗コリン作用による口渇や目眩などの副作用を引き起こす。例えば、ドキシセピンはH1Rに対する親和性が0.69 nMと非常に高いが、セロトニン5-HT<sub>2A</sub>受容体、ムスカリンM1受容体、アドレナリン $\alpha$ 1受容体、ドーパミンD2受容体に対してもそれぞれ3.3 nM, 6.8 nM, 38 nM, 63 nMと高い親和性を示す<sup>6)</sup>。これに対し、第二世代抗ヒスタミン薬は、多くのものがカルボキシ基を持つため親水性が高くっており(図1)、血液脳関門を通過しにくくなって中枢移行性が低下し、鎮静作用が減少している。更に、第二世代抗ヒスタミン薬は、受容体選択性も改善され、抗コリン作用などの副作用