

レチノイド X レセプターのヘリックス 12 の変位機構に関する理論的研究

(神戸大院人間発達環境学¹, JST-CREST², みずほ情報総研³, 立教大理⁴, 国立衛研⁵)

○伊藤三香^{1,2}, 福澤薫³, 望月祐志^{2,4}, 中野達也^{2,5}, 田中成典^{1,2}

【序】レチノイド X レセプター (RXR) は、核内レセプター (NR) スーパーファミリーに属するリガンド誘導性転写制御因子であり、リガンドの作用に関わる標的遺伝子群の発現を転写レベルで制御する[1]。RXR の内因性リガンドである 9-*cis*-レチノイン酸 (9cRA) は、生体内では形態形成制御作用や細胞の分化増殖制御作用を持っており、その投与は、エイズ患者によく見られるカポジ肉腫の治療に有効であることが報告されている[2]。このような 9cRA の作用を効率良く活用するためには、RXR の転写制御機構の理解が重要である。RXR がリガンド依存的に転写を促進するとき、リガンド結合によるレセプター自身の構造変化に伴うコアクチベーターとの相互作用[3]が必須であることが知られている。レセプターの構造変化は、主にリガンド結合領域の C 末端に位置するヘリックス 12 (H12) の移動によるものであるが、リガンド結合ポケットから離れた H12 がなぜ大きく変位できるのか、そのメカニズムの詳細については十分明らかにはされていない。また、リガンド結合前後では、H12 の位置だけではなく、H12 の構成残基の数 (結合前は Asp444–Glu456 の 13 残基、結合後は Phe450–Glu456 の 7 残基) や、H2 の有無 (結合前は有、結合後は無) 等も異なることが知られている (Figure 1) [4]が、リガンド結合によってなぜこのような構造の変化が生じるのかについても十分明らかにはされていない。そこで、本研究では、H12 の変位機構を明らかにするための第一段階として、9cRA 結合前後の human RXR α (hRXR α) のリガンド結合領域 (LBD) を用い、リガンド結合が RXR 内部の構造のゆらぎおよび双極子モーメントのゆらぎ等に及ぼす影響について、分子動力学 (MD) 法およびフラグメント分子軌道 (FMO) 法により検討する。

【方法】 hRXR α LBD および hRXR α LBD-9cRA 複合体の初期構造は、X線結晶構造 (PDB ID: 1LBD, 1FM9) 中の Asn227–Pro458 の 232 残基部分 (Figure 1) を基に AMBER99 力場を用いて水素の付加と最適化により作成した。これらの初期構造を MD シミュレーション (NPT アンサンブル、周期境界条件、2 ns) によって構造緩和し、そのいくつかのスナップショットを最適化した構造をサンプルとして FMO 計算に用いた。FMO 計算は、ABINIT-MP プログラムを用いて MP2/6-31G レベルで行った。

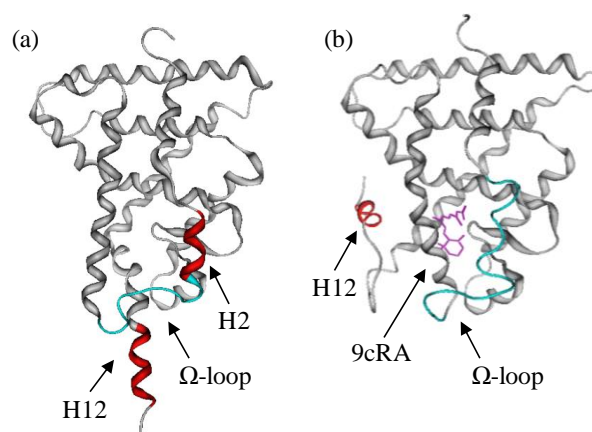


Figure 1. Ribbon display of the hRXR α LBD (PDB ID: 1LBD) (a) and the hRXR α LBD-9cRA complex (PDB ID: 1FM9) (b). The position of 9cRA (purple), H12 (red), H2 (red), and Ω -loop (light blue) are also displayed.

【結果と考察】

MDシミュレーションによって構造が緩和された（全2 nsの最後の500 ps）hRXR α LBD（receptor, R）とhRXR α LBD-9cRA複合体（receptor-Ligand complex, RL）について、レセプター内部の232残基の位置のゆらぎ（500 psの平均値を基準とした二乗平均平方根ゆらぎ、各残基に対して主鎖のN、C α 、C原子のゆらぎの平均値を使用）を解析した結果をFigure 2に示す。

Figure 2から、H12を含むC末端の残基のゆらぎは、R（green）では大きいのに対し、RL（blue）では小さいことがわかる。さらに、RLでは、H12の直前にありH11とH12を結ぶループ（L11-12）、およびH1とH3を結ぶループ（L1-3）内の Ω -loopの残基のゆらぎが大きいことがわかる。

RのH12を含むC末端の残基のゆらぎが大きい理由は、RのC末端が他のペプチド鎖から離れて位置し（Figure 1）、他の残基との相互作用が小さいためであると考えられる。一方、RLのH12を含むC末端の残基のゆらぎが大きい理由は、RLのC末端が他のペプチド鎖（H3やH5）に隣接し（Figure 1）、他の残基との相互作用によって構造のゆらぎが拘束されるためであると考えられる。また、RLのL11-12のゆらぎが大きい理由は、Rではヘリックス構造をとる残基がRLでは変形し易いループ構造をとっているためであると考えられる。RLのL1-3内の Ω -loopのゆらぎが大きい理由は、Rには存在するH2がRLには存在せず、 Ω -loopを含むループが長く、より変形し易いループ構造をとっているためであると考えられる。

以上のようにRとRLの構造のゆらぎには大きな違いがあることから、リガンド結合はレセプター内部の構造のゆらぎに大きな影響を及ぼすことが示された。現在、FMO法を用いた双極子モーメントのゆらぎ等についての解析、および構造のゆらぎと双極子モーメントのゆらぎ等との関係についての考察を検討中である。

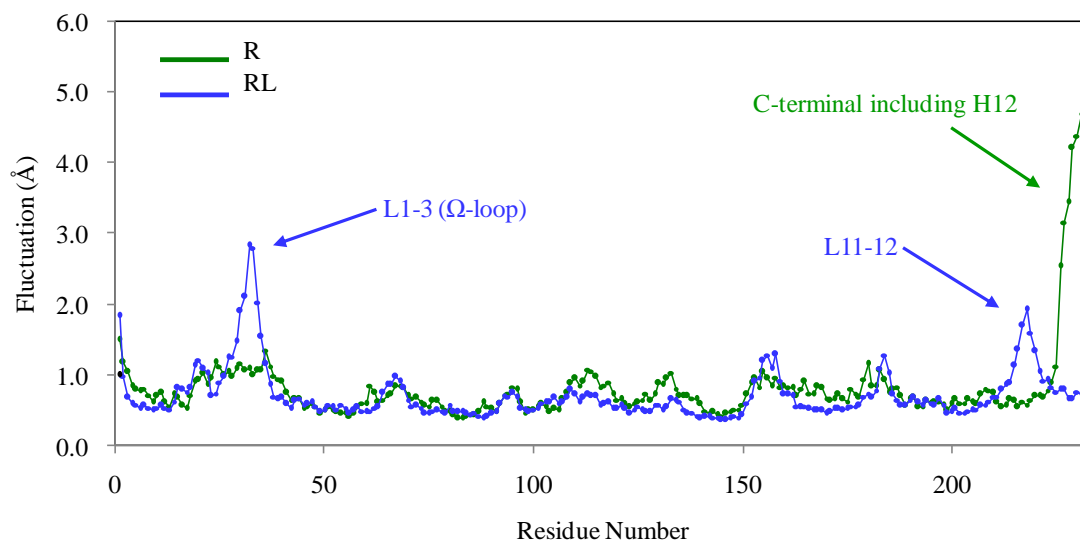


Figure 2. Atomic positional fluctuations for the hRXR α LBD (receptor, R) (green) and the hRXR α LBD-9cRA complex (receptor-ligand complex, RL) (blue).

【参考文献】

- [1] Mangelsdorf, D. J.; Thummel, C.; Beato, M.; Herrlich, P.; Schütz, G.; Umesono, K.; Blumberg, B.; Kastner, P.; Mark, M.; Chambon, P.; Evans, R. M. *Cell* **1995**, *83*, 835–839.
- [2] Miles, S. A.; Dezube, B. J.; Lee, J. Y.; Krown, S. E.; Fletcher, M. A.; Saville, M. W.; Kaplan, L.; Groopman, J.; Scadden, D. T.; Cooley, T.; Von Roenn, J.; Friedman-Kien, A. *AIDS* **2002**, *16*, 421–429.
- [3] Ito, M.; Fukuzawa, K.; Mochizuki, Y.; Nakano, T.; Tanaka, S. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 3525–3533.
- [4] Lu, J.; Cistola, D. P.; Li, E. *Biochemistry* **2006**, *45*, 1629–1639.