

芳香族炭化水素受容体と内分泌攪乱物質間の特異的相互作用の解析

(豊橋技術科学大学¹、東芝研究開発センター²)○吉川依里¹、宮城慧¹、出立兼一¹、伊藤聡²、石原一菅野美津子²、栗田典之¹

【序】芳香族炭化水素受容体 (AhR : Aryl hydrocarbon receptor) は、外来異物が生体内に取り込まれた時に、これらを特異的に結合し認識することにより、その情報を核に伝え、代謝酵素の発現を誘導するタンパク質である[1]。AhR に結合する代表的なリガンドにはダイオキシン類があり、それに属する PCDDs には 75 種類の異性体があり、その内の 7 種類に毒性があることが実験により確認されている。ラット AhR (rAhR) を用いた実験では、ダイオキシン類の中で、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD; Figure 1) は最も毒性が強いが、1,2,4-trichlorodibenzo-p-dioxin (TrCDD; Figure 2) は毒性が殆ど無いことが明らかになっている。しかし、リガンドの構造のわずかな違いにより毒性が大きく異なる原因は、原子レベルでは解明されていない。

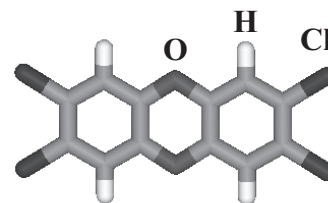


Figure 1 TCDD

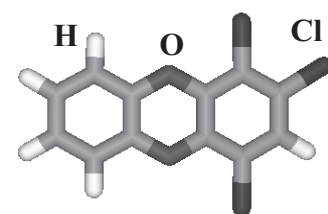


Figure 2 TrCDD

本研究では、薬物異物認識機構において重要な役割を担っている AhR と内分泌攪乱物質である TCDD 及び TrCDD との特異的相互作用を、分子シミュレーションを用いて解明することを目標とした。今回の解析では、rAhR+TCDD 及び rAhR+TrCDD 複合体の安定構造と電子状態を解析し、rAhR と TCDD 及び TrCDD 間の特異的相互作用の相違を、原子・電子レベルで初めて明らかにした。

【計算手順】rAhR と TCDD 及び TrCDD の複合体の X 線または NMR による構造決定は、未だ実現していない。本研究では、ホモロジーモデリングに基づく立体構造予測プログラム MODELLER[2]を用い、PDB に登録されている立体構造既知のタンパク質を鋳型とし、rAhR のリガンド結合ドメイン (LBD) の立体構造を作成した(Figure 3)。rAhR と TCDD 及び TrCDD の複合体構造に関しては、タンパク質-リガンドドッキングプログラム AutoDock4[3]を用い、複数の候補構造を作成した。その構造を古典分子力学計算プログラム AMBER9[4]を用い、水中で最適化した。さらに、AhR 中のアミノ酸と TCDD 間の特異的相互作用を明らかにするため、第一原理 Fragment 分子軌道 (FMO) 法[5]を用い、AhR と TCDD の複合体の電子状態を計算した。FMO 法の計算手法として MP2/6-31G 法を用い、アミノ酸 1 残基、リガンド及び水分子 1 個を 1 フラグメントとした。

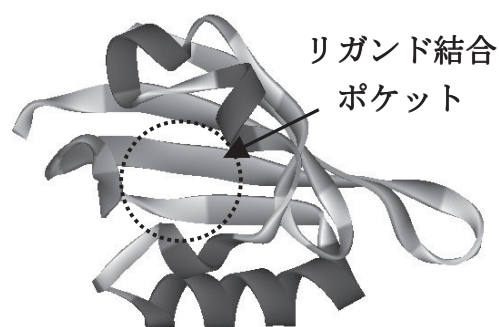


Figure 3 rAhR の LBD の構造

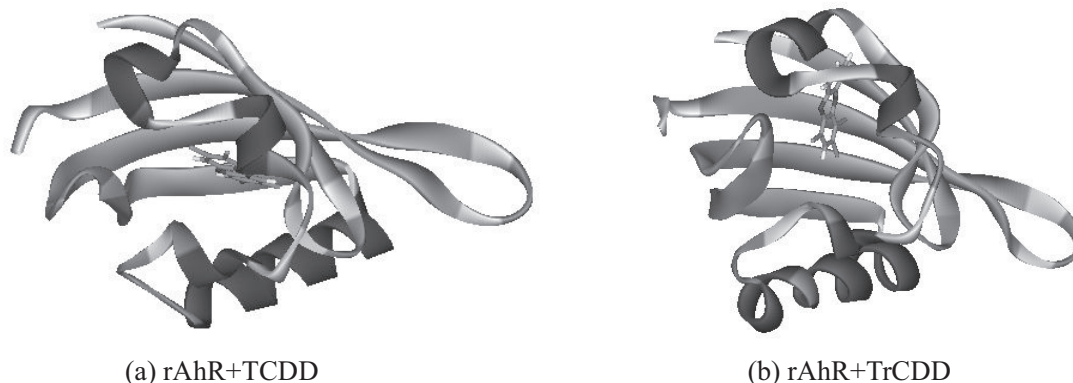


Figure 4 AhR と TCDD / TrCDD の複合体の最安定構造

【結果と考察】FMO 法により求めた Total energy の値を基に、各複合体の最安定構造を決定した。Figure 4 に示すように、TCDD と TrCDD で結合サイトが大きく異なる。それに伴い、AhR のリガンド結合ポケットの構造も変化している。さらに、AhR と TCDD 及び TrCDD 間の結合の強さを明らかにするため、AhR とリガンド間の Binding Energy を解析した。FMO 法により求めた Total energy 及び Binding Energy の値を Table 1 に示す。AhR+TCDD、AhR+TrCDD の複合体の Binding Energy はマイナスとなり、AhR と TCDD 及び TrCDD は結合することが定性的に示された。さらに、TrCDD よりも TCDD が、約 7.87 kcal/mol 強く AhR に結合することが明らかになった。この結果は、TCDD の方が毒性が強いとする実験結果を定性的に説明できる。

TCDD と TrCDD のわずかな構造の相違により、Binding Energy が大きく異なる原因を明らかにするため、FMO 法を用い、AhR を構成する各アミノ酸と TCDD 及び TrCDD 間の相互作用エネルギーを解析した。その結果、リガンド中の Cl 原子の位置に依存して、TCDD 及び TrCDD の酸素原子と AhR 中のアミノ酸との相互作用が変化し、AhR と TCDD 及び TrCDD 間の Binding energy が大きく異なることが明らかになった。結果の詳細は、ポスターで発表する。

Table 1 rAhR+TCDD 及び rAhR+TrCDD の Total energy と Binding energy

	Total energy (Hartree)			Binding energy (kcal/mol)
	rAhR+ligand	rAhR	ligand	
TCDD	-46509.8576	-44064.3426	-2445.4607	-34.05
TrCDD	-46050.9600	-44064.3726	-1986.5456	-26.18

【参考文献】

- [1] A. H. Conney, *Cancer Res.*, 1982, 42, 4875-4917.
- [2] A. Sali et al, *J. Mol. Biol.*, 1993, 234, 779-815.
- [3] G. M. Morris et al, *J. Comp. Chem.*, 1998, 19, 1639-1662.
- [4] D. A. Case, et al., *J. Comp. Chem.*, 2005, 26, 1668-1688.
- [5] K. Kitaura et al, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, 312, 319-324.