

## 抗プリオン化合物の作用機序：ケミカルシャペロンによるプリオンタンパクの構造制御

(岐阜大・人獣研) ○山本典史、桑田一夫

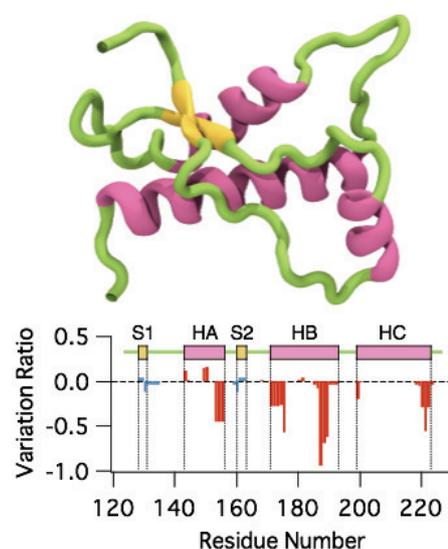
プリオン病の発症メカニズムは、正常型プリオンタンパク (PrP<sup>C</sup>) からスクレイピー型異性体 (PrP<sup>Sc</sup>) への構造転移が関係すると考えられている。しかしながら、PrP<sup>Sc</sup> に関する構造の詳細や構造転移の実際のメカニズムは未だ解明されていない。

近年、プリオンタンパクの内在的な構造不安定性が注目を集めている。例えば、高圧 NMR 実験では、PrP<sup>C</sup> の Helix B と Helix C 内のアミノ酸残基について顕著な圧力依存性を示す化学シフトが観測されている。このことから、生理的状态下であっても、これらの構造的に不安定な部位が部分的に変性した準安定構造 (PrP\*) が PrP<sup>C</sup> と共存し得ると考えられる。

最近、我々は、PrP<sup>C</sup> の構造不安定性を示す Helix B 部位の近傍に結合することで顕著な抗プリオン効果を示す化合物 (GN8) を発見した。例えば、プリオン感染マウスを用いた動物実験では、GN8 を投与したグループが対照群と比較して4週間程度の顕著な生存期間の延長を示した。このように GN8 は抗プリオン剤として注目すべき効果が確かめられているが、実際の作用機構は明らかではなかった。

本研究では GN8 の作用機構に関するケミカルシャペロン仮説について分子動力学シミュレーションに基づき解析した。まず最初に、GN8 が PrP<sup>C</sup> の変性を防ぐか否かについて、変性剤存在下でのシミュレーションを行った。更に、動力学の観点からメカニズムをより理解するため、GN8 が結合することによる PrP の構造揺らぎの変化を解析した。全てのシミュレーションは、一般的な定温条件 (300 K と 1 atm) において、GROMACS プログラムを用いて Gromos96 力場で実行した。

最初に 6 M 尿素溶液中で PrP<sup>C</sup> の変性シミュレーションを実行した。得られた結果を図 1 に示す。天然構造と比べると PrP の立体構造が尿素存在下で部分的に変化していることが明らかである。例えば、helix と sheet の含有率の変化率 (図 1 下段) に示されているように、各 helix の N と C 末端が尿素溶液中で部分的に変性していることが分かる。特に Helix B の C 末端は際立った変性剤不安定性を示していた。この領域は Thr に富んだ領域 (TVTTTT) として知られている。興味深いことに、このように Thr が連続して現れる配列は  $\beta$  strand で頻繁に観測されるものである。したがって、観測された Helix B の部分変性は、 $\beta$  構造に富むと考えられている PrP<sup>Sc</sup> 生成の初期過程で重要な役割を果たすと考えられる。

図 1 PrP<sup>C</sup> の変性シミュレーション

同様に 6 M 尿素溶液中で PrP<sup>C</sup>-GN8 複合体のシミュレーションを実行した。得られた結果を図 2 に示す。シミュレーションの間、GN8 は水素結合を介して、距離的に隔たった 2 つの残基間を架橋することで PrP<sup>C</sup> に結合していた。シミュレーションの結果、GN8 が結合した場合、尿素溶液中であっても PrP は二次構造を (Helix C の C 末端を除いて) 非常に良く維持していた。したがって、GN8 は異常な化学的あるいは物理的摂動に対して天然状態である PrP<sup>C</sup> 構造を安定化させるケミカルシャペロンとして作用する。GN8 のシャペロンとしての役割としては、PrP<sup>C</sup> の構造揺らぎを抑制することが予想される。

GN8 の抗プリオン作用については、図 3 に示すような自由エネルギーダイアグラムが考えられる。尿素存在下で PrP<sup>C</sup> は化学的摂動を受けて、Helix B が部分的に変性した PrP\* 状態となる。水中であっても PrP<sup>C</sup> の内在的な構造不安定性のために PrP<sup>C</sup>→PrP\* の方向に沿った部分変性の初期過程が少なからず起こり得る。しかしながら、GN8 が結合した場合、構造的に不安定である Helix B 部位が安定化されるため、部分変性状態である PrP\* の形成が抑制される。このことから GN8 は何らかの病理学的に異常な摂動に対しても PrP\* の生成を効率的に抑えると予想される。

以上のように、GN8 が結合した場合、PrP<sup>C</sup> の局所的な構造揺らぎが抑制されることで、Helix B の C 末端の部分変性を効率的に防ぐことが分かった。変性剤によって誘起された部分変性構造は、PrP<sup>C</sup> から PrP<sup>Sc</sup> への反応経路を繋ぐ中間状態 (PrP\*) と考えられる。したがって、GN8 は PrP\* 産生を抑制することによって PrP<sup>Sc</sup> の形成を抑制する働きがある。本研究で示した基本原理は、タンパクのミスフォールディングに関する様々な病気に対して、動力学に基づいた薬物設計 (Dynamics-based Drug Design, DBDD) を可能にする鍵になると考えられる。

ポスター発表当日は、リガンド結合による PrP の構造揺らぎの動的変化などの詳細な解析結果を含めて紹介する予定である。

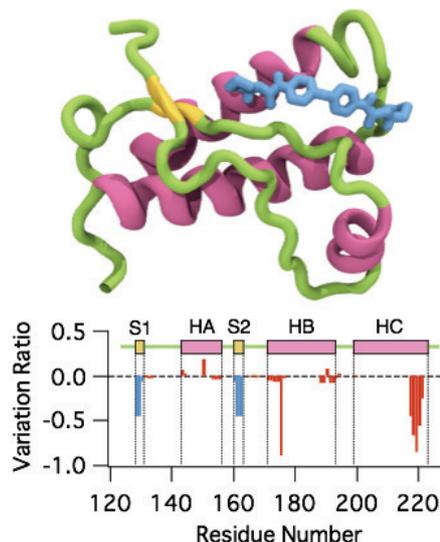


図 2 GN8 複合体のシミュレーション

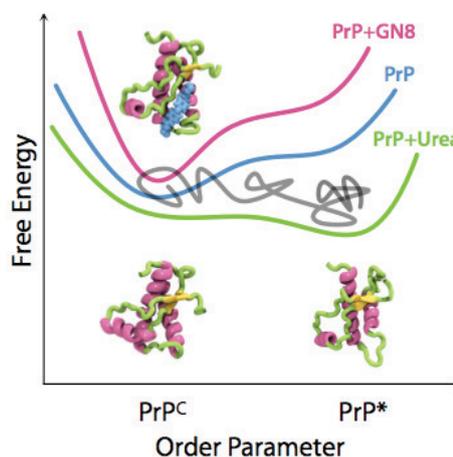


図 3 自由エネルギーダイアグラム

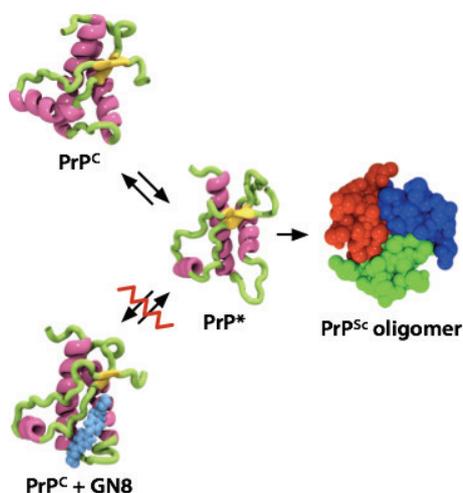


図 4 GN8 の作用メカニズム