

4P099

フラグメント分子軌道計算による癌転移抑制剤と

その受容体との特異的相互作用の解析

(豊橋技術科学大学¹、奈良県立医科大学²)

○辻真吾¹、出立兼一¹、永瀬圭良¹、小林浩²、栗田典之¹

【序】

日本では1981年以降、悪性新生物（以下、癌）が死因の1位を占め続けており、現在、1年間に約100万人の人が癌で亡くなっている。癌患者が死亡する原因は、癌転移により癌が体中の臓器に広がり、人から生命維持に必要な機能を奪ってしまうためである。従って、癌転移を抑制する事ができれば、癌患者の治癒率は飛躍的に向上する。癌細胞は様々な蛋白質分解酵素を産生し、細胞外マトリックス等の細胞周辺組織を分解・浸潤し、血管に進入する。癌細胞は血管内を移動し、標的臓器の血管内皮細胞に接着し、増殖・浸潤する。さらに、癌細胞は浸潤した臓器内で増殖し、転移巣を形成することで、様々な臓器に転移すると考えられている[1]。従って、癌浸潤を抑制することにより、癌転移を制御できる。

近年、癌浸潤に関する生理医学的実験[2]により、癌浸潤に必要な蛋白質分解酵素が明らかになった。それらの中で特に重要な酵素が、urokinase-type plasminogen (uPA) であり、uPA と癌細胞表面上にある uPA receptor (uPAR) の結合が癌浸潤を引き起こすと考えられている。つまり、uPA と uPAR の結合を阻害できれば、癌浸潤を止め、癌転移を抑制することができると考えられる。しかし、uPA と uPAR の特異的結合を電子レベルで明らかにした研究例は無い。そこで、本研究では、uPA と uPAR の特異的結合に重要な uPA のアミノ酸を明らかにするため、uPA と uPAR の特異的相互作用をフラグメント分子軌道 (FMO) 法を用いて解析した。

【計算手法】

本研究では、uPA-uPAR 複合体として、Protein Data Bank (PDB) に登録されている X線結晶構造[3]を用いた。この構造にはアミノ酸 2 残基分の立体構造の欠損が存在するため、ホモロジーモデリングプログラム SWISS-MODEL[4]を用い、欠損部分を補完し、uPA-uPAR 複合体の立体構造を作成した。

次に、作成した構造の水中での安定構造を分子力学・分子動力学計算プログラム AMBER9[5]を用いて決定した。その構造の周囲に厚さ 8Å の水和水を付加し、初期構造を作成した。その水と構造を AMBER9 の Parm99 力場[6] (タンパク質)、及び TIP3P 力場[7] (水分子) を用いて最適化した。さらに、分子動力学 (MD) 計算を用い、300K における水と構造の変化を解析し、その結果を基に、uPA-uPAR 複合体の最安定構造を探索した。

得られた安定構造に対し、FMO 法[8]により、uPA と uPAR の特異的相互作用を電子レベルで解析した。電子状態計算には、FMO 計算プログラム ABINIT-MP[9]を用いた。FMO 法の計算手法として MP2/6-31G を用い、アミノ酸 1 残基及び水分子 1 個を 1 フラグメントとした。

【結果と考察】

ホモロジーモデリングを用いて作成した構造の妥当性を評価するため、欠損部分を除いた部位に対し、今回作成した構造と X 線構造との RMSD (Root Mean Square Deviation) を求めた。その結果、RMSD は 0.31 \AA であり、ホモロジーモデリングを用いて作成した構造は、X 線構造と比較できる構造であることが確認できた。

次に、作成した構造を水中で AMBER 力場を用いて最適化した結果を図 1 に示す。水中で最適化した構造と X 線構造との RMSD は、 2.11 \AA であり、水和により uPA-uPAR の複合体の構造は、大きく変化することが明らかになった。また、uPA のアミノ酸と uPAR のアミノ酸間をブリッジする水分子が存在することも明らかになった。図 1 に示すように、uPA の 20~26 番目のアミノ酸残基が uPA の結合ポケットに結合している。実験[10]においても、21~26 番目のアミノ酸の重要性が指摘されており、今回の結果はその実験結果を説明できる。

FMO 計算の結果の詳細は、当日のポスターで発表する予定である。

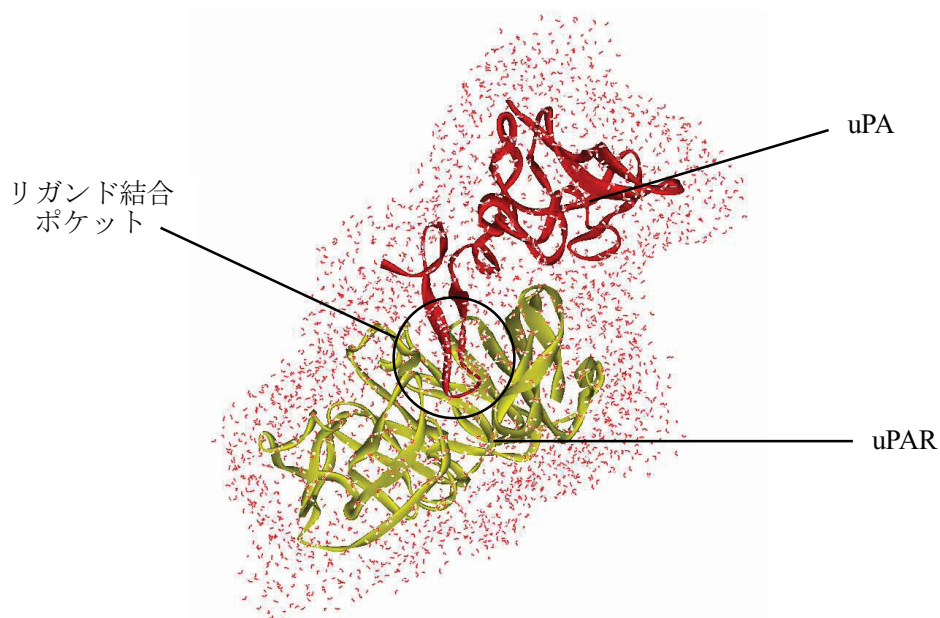


図 1 uPA(赤)-uPAR(黄)複合体の水中での安定構造

【参考文献】

- [1] E. Ruoslahti, How cancer spreads, *Sci. Am.* 1996, 9, 48-55.
- [2] A. E Baker, et al., *J. Cancer.*, 2003, 39, 981-988.
- [3] Q. Huai, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2008, 15, 422-423.
- [4] T. Schwede, et al., *Nucleic Acids Res.*, 2003, 31, 3381-3385.
- [5] D. A. Case, et al., *J. Comput. Chem.*, 2005, 26, 1668-1688.
- [6] J. Wang, et al., *J. Comput. Chem.*, 200, 21, 1049-1079.
- [7] L. W. Jorgensen, et al., *J. Chem. Phys.*, 1983, 79, 926-935.
- [8] K. Kitaura, et al., *Chem. Phys. Lett.*, 1999, 312, 319-324.
- [9] Y. Mochizuki, et al., *Chem. Phys. Lett.*, 2005, 410, 247-253.
- [10] ケスラーホースト他, 国際特許, “ウロキナーゼレセプターの阻害”,
出願番号 : 特願平 10-543492.