

3P106

分子シミュレーションによる核内受容体 PPAR と内分泌攪乱物質の特異的相互作用の解析

岩淵真悟¹、山口蓉子¹、中村春彦¹、中川智彦²、那須民江²、栗田典之¹

(¹豊橋技術科学大学 知識情報工学系、²名古屋大学大学院 医学系研究科)

【研究目的】

核内受容体ファミリーに属するペルオキシゾーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) は、リガンド依存的転写因子であり、最近の医学的研究により、糖尿病などの生活習慣病、癌、炎症性疾患、動脈硬化症など多くの病気への関与が明らかにされている[1]。本研究では、PPAR のサブタイプであるヒト PPAR と内分泌攪乱物質の複合体の安定構造と電子状態を、古典分子力学法及び半経験的分子軌道法を用いた分子シミュレーションにより、原子・電子レベルで解析し、ヒト PPAR と内分泌攪乱物質の特異的相互作用を明らかにした。さらに、その結果と実験結果(内分泌攪乱物質によるマウス PPAR の mRNA 発現量の変化)を比較し、計算手法の精度を検証した。

【研究対象】

PPAR のリガンドの一種である GW409544 及び今回解析した 6 種類の内分泌攪乱物質を Fig. 1 に示す。末端部の COOH が COO⁻ にイオン化し、PPAR の正に帯電したアミノ酸と相互作用すると考えられているが、その詳細は明らかになっていない。

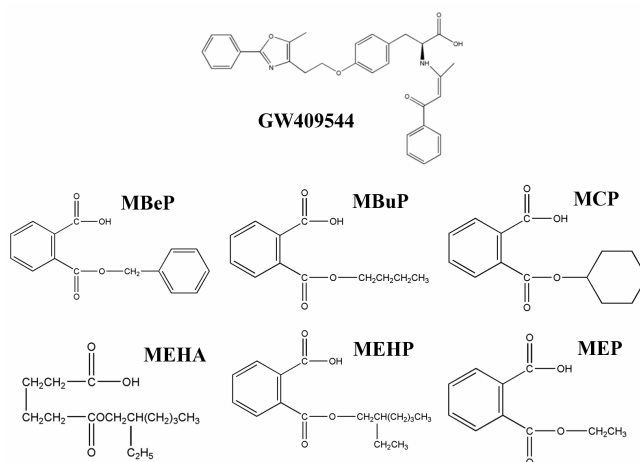


Fig. 1 GW409544 と内分泌攪乱物質の構造

【研究内容と結果】

1. 複合体構造の作成と構造最適化

Protein Data Bank(PDB)より、ヒト PPAR と GW409544 複合体の実験構造を入手した。PDB コードは 1K7L である。この構造は、4 量体を含むため、単量体を切り出し、単量体の周辺にある水分子以外を削除した。また、この構造は、X 線解析により決定されているため、水素の位置情報が欠如している。そこで、分子シミュレーション支援システム HyperChem を用いて水素を付加し、水素のみを古典分子力場 AMBER で構造最適化し、この構造をヒト PPAR と GW409544 複合体の初期構造とした (Fig. 2)。

さらに、ヒト PPAR と内分泌攪乱物質の複合体を作成するため、まず、非経験的分子軌道計算プログラム Gaussian03 の MP2 法を用い、6 種類の内分泌攪乱物質の構造を最適化し、電荷分布を求めた。その結果を用いて AMBER 力場のパラメータを決定し、さらに、GW409544 を 6 種類の内分泌攪乱物質に置換し、ヒト PPAR と内分泌攪乱物質の複合体構造を作成した。このように作成した 7 種類の初期構造を、AMBER 力場を用い、連続溶媒近似である Still 法を用いた水中で最適化した。

2. 電子状態の解析

ヒト PPAR と GW409544 及び内分泌攪乱物質との結合エネルギーを解析するため、汎用の半経験的分子軌道計算プログラム MOPAC の PM3 法と MOZYME 法 (高分子用半経験的分子軌道法) を用いて電子状態を計算した。その際、真空中での計算では、ヒト PPAR と内分泌攪乱物質間の静電相互作用が過大評価されるため、COSMO 法による連続溶媒近似で溶媒効果を考慮した水中での計算を行った。

Table 1 に示すように、内分泌攪乱物質の違いにより、結合エネルギーが大きく異なっている。特に、ヒト PPAR と MEHA の結合が強い。この原因を明らかにするため、リガンドとの結合に重要であるとされるヒト PPAR のアミノ酸[2]とリガンド間の距離及び電荷分布を解析した。また、マウス及びラットの PPAR についても同様の解析を行い、ヒトと動物種の間にはどのような特性の違いが存在するのかを解析する予定である。それらの結果については当日ポスターで発表する。

【参考文献】

- [1] 影近弘之、宮地弘幸、日本臨床、**63**, 549-555 (2005) .
 [2] Cronet P., Peterson J.F.W., Folmer R., Blomberg N., Sjoebloom K., Karlsson U., Lindstedt E.L., Bamberg K., *Structure*, **9**, 699-706 (2001).

Table 1 ヒト PPAR と GW409544 及び内分泌攪乱物質の結合エネルギー (kcal/mol)

Ligand	Protein + Ligand + H ₂ O	Protein	H ₂ O	Ligand	Binding energy
GW409544	-19188.20	-14720.05	-4278.73	-168.37	-21.05
MBeP	-19163.58	-14670.39	-4277.44	-188.69	-27.06
MBuP	-19201.82	-14666.09	-4277.01	-232.73	-25.99
MCP	-19215.70	-14667.59	-4278.73	-237.52	-31.87
MEHA	-19304.08	-14687.12	-4277.97	-298.69	-40.30
MEHP	-19241.43	-14699.26	-4276.93	-251.91	-13.32
MEP	-19191.60	-14655.56	-4278.68	-226.92	-30.44

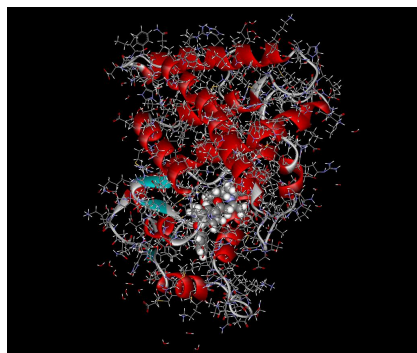


Fig. 2 ヒト PPAR と GW409544 の複合体の構造