

3P107

分子シミュレーションによる核内受容体 PPAR とリガンドの特異的相互作用の解析

山口蓉子¹、岩淵真悟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)

【 研究背景と目的 】

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、生体の脂質・糖代謝のみならず、発癌、骨代謝、炎症、繊維化などの様々な生理機能を持ち、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 PPAR の関与が明らかにされている[1]。PPAR には、 α 、 β 、 γ の3つのサブタイプが存在し、PPAR α は脂肪酸の代謝や輸送に関連する遺伝子、及びコレステロールや中性脂肪の代謝に関連する遺伝子の発現を制御している[2]。

様々なリガンドをヒト及びラット PPAR に投与した医学的研究により、リガンド投与による PPAR の転写活性の変化が、ヒトとラットで大きく異なることが明らかになっている。例えば、Fig. 1 に示す KCL (2-ethylphenyl-propanoic acid derivative)を投与した場合は、ヒト PPAR の転写活性の増加は、ラット PPAR の約 100 倍である[3]。一方、WY-14,643 (Fig. 1: hypolipidemic drug)を投与した場合は、ヒト PPAR の転写活性の増加は、ラット PPAR の約 1/10 である[4]ことが、医学的実験により明らかになっている。

本研究では、様々な動物の PPAR のリガンド依存性が、PPAR のどのような特性により決まっているかを明らかにする目的で、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、ヒト及びラット PPAR に Fig. 1 に示す 5 種類のリガンドを結合させた複合体の安定構造と電子状態を、原子・電子レベルで解析し、PPAR とリガンド間の結合エネルギーを求めた。その結果を基に、PPAR とリガンド間の特異的相互作用を明らかにし、PPAR のどのアミノ酸がリガンドとの結合に重要であるかを予測した。

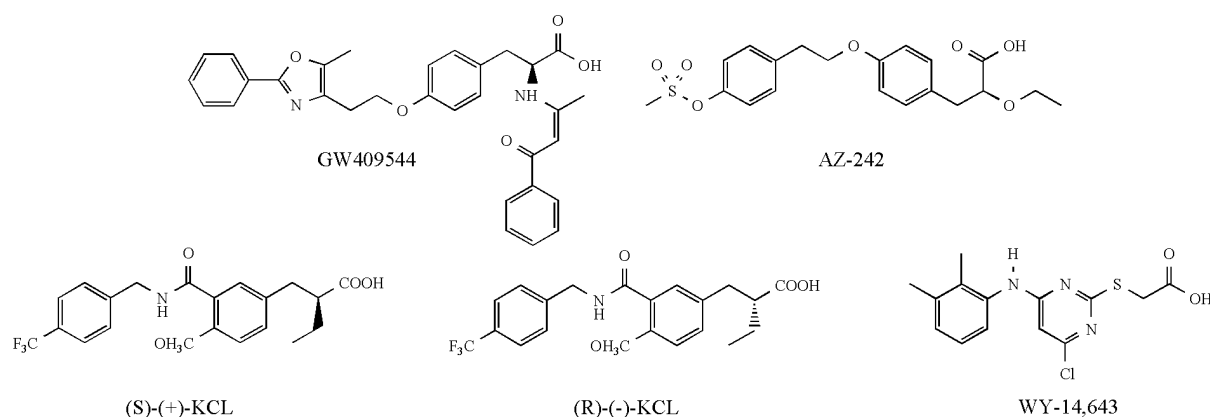


Fig. 1 PPAR に結合するリガンド

【 研究内容と結果 】

(1) 計算手法の検証：AMBER 力場と溶媒近似法の決定

PPAR サブタイプの中で PPAR α に対してのみ、リガンドが結合した構造及び PPAR 単体の構造が実験で明らかになっている。そこで、構造最適化の計算手法の精度を検証するため、Protein Data Bank に登録されている PPAR 単体 (PDB ID: 1K74) 及び GW409544 が結合した PPAR α (PDB ID: 1PRG) の構造を入手し、分子力学・動力学プログラム Tinker の分子力場 AMBER を用いて、これらの構造を最適化した。実験構造と最適化構造を比較し、より実験構造に近い結果を得る計算手法を決定した。その結果、AMBER94 力場を用い、Still 法による連続溶媒近似の水中で最適化する手法が、実験構造を最も再現することが明らかになった。従って、今回の計算では、AMBER94 力場と Still 法を用いて、他の複合体の構造も最適化した。

(2) 電子状態の解析

上記の手法で構造最適化した、リガンド、結晶水及び PPAR から成る複合体に対し、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 PPAR とリガンド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を用い、水中で電子状態を計算した。ヒト及びラット PPAR とリガンド間の結合エネルギーを Table 1 に示す。

Table 1 ヒト及びラット PPAR とリガンド間の結合エネルギー (kcal/mol)

結合エネルギー	GW409544	AZ-242	S-KCL	R-KCL	WY-14643	WY-Anti
ヒト PPAR	-21.05	-13.85	50.24	15.85	-34.14	-7.71
ラット PPAR	-	-41.25	35.74	45.48	220.47	-5.28

現状の計算では、S-KCL 及び R-KCL 共に、PPAR と結合しない結果となり、KCL 投与により PPAR の発現量が増大する実験結果[3]を説明できない。また、WY-14643 に関しては、ラット PPAR には結合しないという結果になり、WY-14643 を投与した場合、ラット PPAR の転写活性の増加が顕著であるとする実験結果[4]を説明できない。

現在、実験との不一致を解消するため、PPAR 周囲の水和水を顕に考慮した分子動力学計算により、複合体の安定構造をより高範囲に探索中であり、それにより、PPAR とリガンドの複合体の安定構造をより高精度に決定できると考える。また、密度汎関数法に基づく高精度な電子状態計算を実行し、PPAR とリガンド間の結合エネルギーをより高精度に解析する予定である。これらの結果については、当日の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] Aoyama T., Peters J.M., Iritani N., Nakajima T., Furihata K., Hashimoto T., Gonzalez F.J., *J. Biol. Chem.* **273**, 5678-5684 (1998).
- [3] Uchiki H., Miyachi H., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 365-367 (2004).
- [4] Keller H., Devchand P.R., Perroud M., Wahli W., *Biol. Chem.*, **378**, 651-655 (1997).
- [5] Henke B.R., *J. Med. Chem.* **47**, 4118-4127 (2004).