

実施課題番号 : 2006A0202

実施課題名 : コンピューター技術を活用した創薬手法の研究における疾患原因
蛋白質の構造解析手法の研究

実験責任者 所属機関 : 日本電気株式会社

氏名 : 高田 俊和

使用ビームライン : BL41XU

実験の目的および結果

プロスタグランジン(PG)は生体内で局所ホルモンとして産生され、様々な機能の調節を行っている。多くのPGは、アラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ(COX)により生成されたPGH₂を共通の基質としている。末梢神経系においてPGD₂は、このPGH₂から造血管型PGD合成酵素(H-PGDS)によって、特異的に合成される。

これまでの抗アレルギー剤は、アスピリンやインドメタシンなど、COXをターゲットにしたものが主であったが、これらは他のPGの産生も止めてしまうので、様々な副作用があることがわかっているが、H-PGDSをターゲットにした阻害剤は、アレルギーのみを抑制する、副作用のない薬になると期待されている。

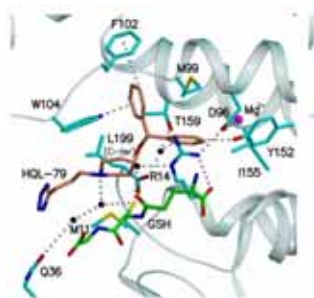


Fig.1 活性部位における
HQL-79の結合

以前我々は、ヒト由来H-PGDSとHQL-79との複合体のX線構造解析を行い、1.45分解能の構造解析に成功した(Fig.1)。HQL-79のビフェニル環が活性部位のPocket1、Pocket2に挿入する形で結合していた。HQL-79は経口投与で効果があり、*K_d*値は1.7 μMである。H-PGDS阻害による抗アレルギー剤の実用化には、さらなる阻害率の向上が必要である。そこで、相互作用のなかったピペリジン環およびリンカー部を除いた、

4-Diphenylmethoxy-1-methylpiperidinehydrochloride (DPMMP)をリード化合物にし、2.0分解能でCa²⁺結合型構造を決定し、HQL-79と同様な結合様式を持つことを明らかにした。これにより、DPMMPを基本骨格とした他の誘導体も同様な結合様式になることが予想された。

今回、DPMMPのフェニル環のパラ位に塩素原子を導入した、DPMMP-Cl(Fig.2)を用い、H-PGDSとの複合体構造解析を行った。これは塩素原子がPocketの空間を充填し、阻害率が改善するとの予測による。構造解析の結果、活性部位にDPMMP-Clに対応した電子密度が、DPMMPと同様な結合様式で確認された(Fig.3)。しかし、BIACORE2000によるSPR測定を行った結果、*K_d*=174 μMとなり、DPMMPより7倍程度増加した。またHQL-79のCl誘導体でも同様にSPR測定を行った結果、HQL-79に対し7倍程度の*K_d*値の増加が見られた。以上より、Cl誘導体はDPMMPと同様に活性部位に結合しPocketを充填するが、阻害率は悪化することを明らかにした。

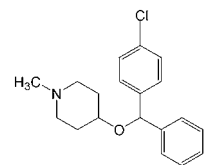


Fig.2 DPMMP-Clの構造

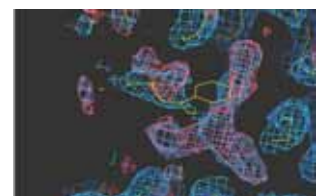


Fig.3 DPMMP-Clの電子
密度図