

立教大学学術推進特別重点資金（立教 S F R）
 大学院生研究
 2004 年度研究成果報告書

研究科名	立教大学大学院			理学	研究科	化学	専攻
指導教員	所属・職名		氏名				
	理学部化学科		常盤 広明 印				
自然・人文の別	自然	・	人文	個人・共同の別	個人	・	共同 名
研究課題	環境ホルモン構造活性相関に関する理論的研究						
研究代表者	在籍研究科・専攻・学年		氏名				
	理学研究科化学専攻 博士後期課程 2 年		山岸 賢司 印				
研究組織	在籍研究科・専攻・学年		氏名				
	理学研究科・化学専攻・博 士後期課程・2 年		山岸 賢司				
研究期間	2004 年度						
研究経費	500 千円						

研究の概要 (200~300 字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

環境ホルモンは、主に生殖作用に対して悪影響を及ぼすため、種の存続にかかわる重大な環境汚染問題を引き起す。現状ではあらゆる化学物質にその疑いがもたれており、その特定はきわめて困難である。そこで我々はニューラルネットワークという手法を用い、化学物質の構造とその毒性との相関関係を解析することで、環境にまったく負荷をかけずに環境ホルモンとなりえる予測手法の構築を目指す。以上の目的に向かい、申請年度では以下の 2 点について重点的に解析を行った。

- (1) logP, solubility, pKa 各種物性値の新規予測手法の開発
- (2) フラグメント分子軌道法によるレセプターーリガンド相互作用解析

キーワード (研究内容をよく表しているものを 3 項目以内で記入。)

[環境ホルモン] [構造活性相関] [ビタミン D]

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

(1)ニューラルネットワーク法による logP, solubility, pKa の予測手法の開発

logP, Solubility(溶解度), pKa という化学物質の各物性値は、環境ホルモンの毒性と密接に相関していると考えられている。またこれらの値は、医薬品開発においてもきわめて重要な物性値として用いられており、新薬の設計段階においてこれらの値を予測できることのメリットは大きい。そこで我々は、これら 3 つの物性値を高精度にかつ簡単に予測することを目的に新たな手法の開発を行った。

我々はデータ解析手法として、非線形解析手法であるニューラルネットワーク法を用いた。また解析に用いる各化学物質の記述子(解析の入力データ)には、化学物質の化学構造式から作成できるきわめて簡単なフラグメントのみを用いた。このフラグメントは、各物性値にあわせてすべて我々が独自に作成した。

【fitting 結果】

logP, solubility, pKa にいてニューラルネットワーク法により fitting を行った。以下に解析結果を示した。それぞれ約 300 物質以上の化学物質について解析した。いずれの物性値も相関係数(r^2)は 0.99 程度であり、誤差の標準偏差(s)も 0.3 程度であった。我々の定義したフラグメントとニューラルネットワーク法を組み合わせることで、きわめて良い相関関係を構築することに成功した。

	化学物質数	記述子数	近似曲線	相関係数	標準偏差	最大誤差
logP	: 627	127	$y=0.989x+0.016$	0.988	0.139	0.762
solubility	: 331	57	$y=0.998x-0.002$	0.993	0.312	-0.550
pKa	: 310	56	$y=0.997x+0.029$	0.998	0.279	1.558

【他の予測手法との比較】

logP の fitting 結果について、中馬らの予測手法[1]との比較を行った。彼らは 166 個の化学物質を 3 つのグループに分け、それぞれのグループごとに線形解析を行い、高精度での相関関係の構築に成功している。そこで我々のデータセットと共通の 161 個の化学物質を選び出し、比較した。Group1, Group2 ではほぼ同等であるが、Group3 では明らかに我々の手法が良い結果を得た。また彼らは分子の記述子として分子軌道計算結果を用いているため、解析を行う為に大変手間がかかる。一方我々の手法は分子の 2 次元構造式のみから容易に解析が可能である。

[1] H.Chuman, A. Mori, H. Tanaka, *Anal. Sci.*, **18** (2002)

【prediction 結果】

次に我々の手法の予測能力を確認するために、fitting に用いていない化学物質についてその物性値の予測を行った。logP では 202 分子、solubility では 58 分子、pKa では 67 分子の予測を行った。予測結果の詳細を以下に示した。予測結果についても相関係数(r^2)は 0.9 以上であり、高精度に予測することが可能であった。

	化学物質数	近似曲線	相関係数	標準偏差	最大誤差
logP	: 202	$y=0.959x+0.133$	0.911	0.304	0.885
solubility	: 58	$y=0.950x-0.180$	0.903	0.992	0.375
pKa	: 67	$y=1.049x-0.002$	0.959	0.778	-2.113

以上の結果より、我々が定義した記述子を用い、非線形解析手法であるニューラルネットワーク法による解析を行うことで、従来の方法では不可能であった、簡単さと精度の両者を同時に満たした新たな予測手法の構築に成功した。さらに、我々の手法は、異なる 3 つの物性値を同一の手法で解析を行っている。これまでに、複数の物性値を统一的に解析した例はなく、我々の手法の優位性を示すものである。また、この予測手法は、分子の構造式から予測が可能で、専門的な知識を必要としない。よって他分野、特に薬学系や製薬会社などでの利用が活発になると期待できる。

今後、環境ホルモンの毒性との構造活性相関の解析において、これらの物性値を取り込んだ解析を行うことで、よりの確な毒性予測が行えることが期待される。

研究成果の概要 つづき

(2) フラグメント分子軌道法によるレセプター-リガンド相互作用解析

一般的に環境ホルモン物質は生体内の核内レセプターに結合、もしくはホルモンの核内レセプターへの結合を阻害することで、生体に悪影響を与えることが知られている。すなわち、レセプターとリガンドとの相互作用解析は、環境ホルモン物質の生体への作用機構を明らかにする上で重要な意味を持つ。レセプターとリガンドとの相互作用の重要な要素である“水素結合”や“疎水性相互作用”などを定量的に解析するためには、系全体の全電子計算を行う必要がある。しかし、レセプターは 4000 原子を超える巨大分子であるため、従来の方法は経験的なポテンシャル関数を用いた計算手法に制限されてきた。近年、巨大分子の全電子計算を可能にした“フラグメント分子軌道(FMO)法”が開発された。早くから全電子計算を用いた解析の必要性を認識していた研究代表者らは、FMO 法が開発された初期段階から、この FMO 法を用いた研究に携わってきた。現在までに Estrogen Receptor, Progesterone Receptor などに適用され、一定の成功を収めてきている。

そこで我々は、本研究助成の申請年度で、この FMO 法を核内受容体のひとつである Vitamin D Receptor(VDR)に適用し、VDR- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 複合体構造に対する全電子計算を行った。全電子計算の計算結果から以下のことが明らかになった。

(1) VDR- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の複合体において、X-ray の結晶構造解析では分からない水素原子座標を決定し、VDR と $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との水素結合ネットワークを明らかにした。これにより水素結合における、hydrogen donor/acceptor の関係が特定できた。(2) FMO 法における残基間相互作用解析から、VDR と $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との水素結合において、重要な役割を持っているアミノ酸残基を以下のように特定した。① R274 はすべてのアミノ酸残基の中で $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と最も大きな安定化相互作用をしていた。② S278 は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の 3 位水酸基から水素結合距離にあるにも関わらず、ほとんど相互作用をしていないことを明らかにした。我々が決定した水素原子座標から、この原因は S278 は 3 位水酸基と直接水素結合を形成していない為であると特定した。③ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の 3 つの水酸基(1 位、3 位、25 位)は、レセプターとの水素結合において等価ではなく、1 位-25 位-3 位の順に重要な役割を持っていることを明らかにした。④ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の各水酸基は、VDR の 2 つのアミノ酸残基と水素結合を形成する。相互作用解析結果から、どちらのアミノ酸が水素結合形成に重要な役割を演じているかを特定した。(3) VDR に対する実験的解析:ASMA(Alanine Scanning Mutational Analysis)の解析結果を理論的に裏付けることに成功した。(4) R274 が mutation を起こすことにより引き起こされる“くる病”は、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との水素結合のひとつが無くなるだけでなく、リガンドとレセプターとの最も強い水素結合が失われることによるものであるということを明らかにした。

以上の VDR- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に対する全電子計算結果は、水素結合に重要なファーマコフォアを理論的に特定しただけでなく、これらの解析結果は種々の生化学実験事実を裏付けるものであった。

VDR に対する FMO 計算における我々の研究成果が評価され、科学技術振興事業団(JST):シミュレーション技術の革新と実化基盤の構築:16 年度のチーム型研究 CREST タイプにおいて、神戸大学の田中成典を中心とする“FMO 法による生体分子計算のシステム開発”の研究グループの一員として、研究代表者の指導教員である常盤広明助教授のグループが参加し、研究を進めることになった。さらに、文部科学省 IT プログラム「基盤戦略的基盤ソフトウェア開発」プロジェクトに参加し、16 年度の“地球シミュレータ”の利用を許可する課題の一つに選ばれるに至った。

本研究助成により進めることができたこれらの研究題材は、2005 年度には以上の研究プロジェクトが本格的にスタートすることで、更なる研究成果が出てくると期待される。