

実施課題番号 : 2005B0907  
 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PGH<sub>2</sub>を共通の基質としている。末梢神経系においてPGD<sub>2</sub>は、このPGH<sub>2</sub>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。

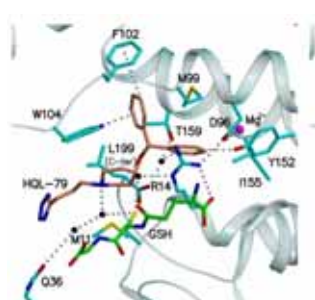


Fig.1 活性部位におけるHQL-79の結合

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。また、末端のテトラゾール環は酵素の外側に位置し、全く相互作用をもたないことも明らかになった。また、GSHとHQL-79が立体障害のない形で結合していることから、GSHは、HQL-79が特異的に結合しやすいように活性部位を形成していることがわかった。HQL-79は経口投与で効果があり、*K<sub>d</sub>*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。

今回、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-methylpiperidine hydrochloride (Sigma-Aldrich)(Fig.2)をリード化合物にし、2.0 分解能でCa<sup>2+</sup>結合型構造を決定した。その結果、HQL-79と同様な結合様式を持つことが明らかになった(Fig.3)。今回の結果は、4-Diphenylmethoxy-1-methylpiperidine hydrochlorideを基本骨格に有する他の誘導体も同様の結合様式であることを示唆しており、構造を元にしたさらなる誘導体の構築が可能になった。BIACORE2000によるSPR測定の結果、HQL-79に比べ*K<sub>d</sub>*値が10倍程度となり、テトラゾール部位の効果が明らかとなった。現在、構造と生化学的実験の関連を検討中である。

また、本化合物のMg<sup>2+</sup>存在下での複合体結晶からのX線回折強度データは、現在SPring-8で進められているMail-inシステムのテスト運転により初めてデータ収集され、現在解析中である。

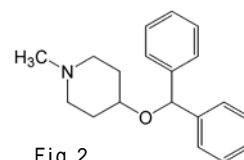


Fig.2  
4-Diphenylmethoxy-1-methylpiperidine hydrochloride

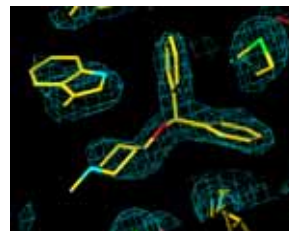


Fig.3 Electron density of piperidine compound