

論文 / 著書情報  
 Article / Book Information

題目(和文)	分子動力学シミュレーションによるアポトーシス抑制性タンパク質阻害剤の標的選択性に関する研究
Title(English)	
著者(和文)	和久井直樹
Author(English)	Naoki Wakui
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10906号, 授与年月日:2018年4月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:岩崎 博史,一瀬 宏,伊藤 武彦,清尾 康志,林 宣宏,関嶋 政和
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10906号, Conferred date:2018/4/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(論文博士)

## 論 文 要 旨 (和文2000字程度)

報告番号	乙 第 号	氏 名	和久井 直樹
<p>( 要 旨 )</p> <p>薬の開発は非常に費用と時間のかかるプロセスであり、新薬が市場に到達するまでにかかる時間は平均で12年から14年、費用は約26億ドルにも上ると見積もられている。このコストを削減するために計算技術が適用されており、計算技術を用いた多くの研究が新しい薬剤候補化合物の発見に多大な貢献をしている。その中でも分子動力学シミュレーションはタンパク質と阻害剤の相互作用を調べるための強力な計算技術であり、最近の研究では様々な標的タンパク質と阻害剤の分子メカニズムを調べるために利用できることが示されている。</p> <p>アポトーシスは、その抑制性タンパク質と促進性タンパク質の絶妙なバランスによって制御されている。血液の悪性腫瘍や固形腫瘍などの多くの癌ではこのバランスが崩れアポトーシスの阻害が起きているのが大きな特徴である。それゆえに、アポトーシス抑制性タンパク質は癌治療における潜在的な創薬標的となりうる。これまでに、ABT-263 (Navitoclax) は、低分子量の経口抗がん剤として開発され、アポトーシス抑制性タンパク質であるBcl-2とBcl-XLの両方を阻害することが知られている。前臨床試験において、Navitoclaxはリンパ系悪性腫瘍に対して有効な抗腫瘍活性を示したが、主な副作用として血小板減少症が見られた。これは、リンパ系悪性腫瘍の生存がBcl-2に依存し、血小板の生存がBcl-XLに依存することから、Navitoclaxは腫瘍細胞と血小板細胞の両方の細胞のアポトーシスを誘導したためと考えられている。そこで、単一のアポトーシス抑制性タンパク質を選択的に標的とする薬剤が求められていた。</p> <p>そのため、いくつかのアポトーシス阻害剤が開発された。中でも、ABT-199は最も有望なBcl-2選択的阻害剤である。また、A-1155463はBcl-XLを選択的に阻害することが示されている。Bcl-2とBcl-XLにおける阻害剤の結合部位のアミノ酸配列は類似しているにもかかわらず、それぞれの阻害剤は標的タンパク質に選択的に結合する。このことから、これらのアポトーシス抑制性タンパク質と阻害剤との相互作用の違いを明らかにすれば、阻害剤の選択性の仕組みが解明されることが期待される。そこで、本研究では分子動力学シミュレーションを用いてこれらアポトーシス阻害剤の標的選択性を解析した。</p> <p>Bcl-2/ABT-199 複合体、Bcl-XL/ABT-199 複合体および Bcl-2/A-1155463 複合体の共結晶構造の報告は無いので、これら複合体の立体構造のモデリングを Schrödinger 社の Maestro を用いて行った。まず、Bcl-2 と Navitoclax アナログの複合体構造 (PDB ID:4MAN) をもとに、Maestro の 3D builder 機能を用いて Navitoclax アナログを ABT-199 に置換することで Bcl-2/ABT-199 複合体の立体構造情報を得た。次に、得られた Bcl-2/ABT-199 複合体モデルと Bcl-XL の立体構造 (PDB ID:5B1Z) を Maestro の protein structure alignment 機能を用いて C<math>\alpha</math> で重ね合わせて Bcl-XL/ABT-199 複合体の立体構造情報を得た。Bcl-2/A-1155463 複合体のモデリングには Bcl-2/ABT-199 複合体モデルと Bcl-XL/A-1155463 複合体構造 (PDB ID:4QVX) を用いた。構築した 3 つの複合体構造および Bcl-XL/A-1155463 複合体構造 (PDB</p>			

ID:4QVX) を初期構造として、100 ns の分子動力学シミュレーションを初速度を変えて4回ずつ実施した。それぞれ得られた軌跡に対してタンパク質と阻害剤の相互作用を調べた。

その結果、Bcl-2/ABT-199複合体とBcl-XL/ABT-199複合体で見られたほとんどの相互作用様式は似通っていることがわかった。しかし、Bcl-2とBcl-XLの阻害剤結合部位において数少ない配列の違いであるAsp-103とGlu-96との相互作用様式においては、有意な差異があることがわかった。すなわち、Asp-103ではシミュレーション中の平均90%以上で安定して阻害剤と水素結合を形成できるのに対し、Glu-96では平均して40%しか安定した水素結合を形成していなかった。この差がBcl-2に対するABT-199の選択性を生み出していると考えられる。

一方、A-1155463との複合体と相互作用を比較した結果、Bcl-XLと阻害剤が新たにSer-106とLeu-108の主鎖原子との相互作用を獲得していることが明らかになった。一方、Ser-106とLeu-108に対応するBcl-2のアミノ酸は、 $\alpha$ ヘリックス3に位置するAla-113とMet-115であり、これらのアミノ酸は阻害剤との相互作用には関与していなかった。Bcl-XLでは $\alpha$ ヘリックス3が緩みループ様の構造となっており、Ser-106とLeu-108の主鎖原子は阻害剤と相互作用が可能となっていた。すなわち、Bcl-XL選択性に関して、タンパク質の二次構造が重要な要素であることがわかった。

以上の発見は、アポトーシス抑制性タンパク質の選択的阻害剤の分子メカニズムに重要な知見を与えるものである。

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(論文博士)

## 論 文 要 旨 ( 英 文 )

(300語程度)

(Summary)

報告番号	乙 第	号	氏 名	Naoki Wakui
<p>( 要 旨 )</p> <p>Drug development is a very costly and time consuming process. Computational techniques have been applied to reduce this cost and many studies using computational techniques have made a great contribution to the discovery of new drug candidate compounds. Molecular dynamics simulation is a powerful computational technique for investigating the interaction between proteins and inhibitors.</p> <p>Apoptosis is controlled by the balance of the anti-apoptotic proteins and the pro-apoptotic proteins. In many cancers, this balance breaks down and inhibition of apoptosis is observed. Therefore, anti-apoptotic protein can be potential drug targets in cancer therapy.</p> <p>Several anti-apoptotic protein inhibitors have been developed so far. Among them, ABT-199 is the most promising Bcl-2 selective inhibitor. In addition, A-1155463 selectively inhibits Bcl-XL. Although the amino acid sequences of the binding sites of inhibitors in Bcl-2 and Bcl-XL are similar, each inhibitor selectively binds to the target protein. From this, it is expected that the mechanism of selectivity of inhibitors will be elucidated by clarifying the difference in interaction between these anti-apoptotic proteins and inhibitors. Therefore, in this study, target selectivity of these anti-apoptotic protein inhibitors was analyzed using molecular dynamics simulation.</p> <p>Most of the interactions seen in the Bcl-2/ABT-199 complex and Bcl-XL/ABT-199 complex were similar. However, it was found that there is a significant difference in the mode of interaction between Asp-103 and Glu-96, which is a few sequence differences in inhibitor binding sites of Bcl-2 and Bcl-XL. This difference is thought to be responsible for the selectivity of ABT-199 for Bcl-2.</p> <p>As a result of comparing the interaction of Bcl-2/A-1155463 complex and Bcl-XL/A-1155463, main chain atoms of Ser-106 and Leu-108 from Bcl-XL acquired the interaction with A-1155463. For Bcl-XL selectivity, the secondary structure of <math>\alpha</math>-helix 3 is a key factor. SER106 and LEU108 in the loose <math>\alpha</math>-helix 3 interact with A-1155463 to confer Bcl-XL selectivity.</p> <p>These findings provide important insights into the molecular mechanisms of selective inhibitors of Bcl-2 family proteins.</p>				

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).