

図表2-3 高フッ素化合物の特定な置換基

Mol_ID	クラスID	NOEL	Activity	-SO2-N [aliphatic attach]	-CL [chlorine, aromatic attach]	-C#N [cyano, aromatic attach]	-S(=O)- [sulfoxide, aromatic attach]	-NO2 [nitro, aromatic attach]	-O- [aliphatic O; two aromatic attach]	-C#N [cyano, aliphatic attach]	-NH2 [aliphatic attach]	-I [iodine, aliphatic attach]
17	1	5	liver/blood	-	+	-	-	-	-	-	-	-
33	1	5	liver	-	-	-	-	-	-	-	+	-
34	1	5,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
30	1	8	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	1	20	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	1	20	liver/blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	1	25	blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	1	25	liver/blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	1	40	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	1	60	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	1	100	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	1	150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	2	3	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	2	5	blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2	8	liver/blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	2	8	liver/blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	2	8	liver/blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	2	8	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	2	8	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2	10	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	2	15	liver/blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	3	2.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	3	11.5	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	3	20	liver/kidney	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	3	26.4	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	4	100	blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	4	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	5	40	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	5	200	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	6	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6:	7	0.5	thyroid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	8	5	kidney	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	9	8	liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	10	0.5	liver	+	-	-	-	-	-	-	-	-

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究

分担研究者 広野 修一 北里大学・薬学部・教授

研究要旨

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体（PPAR）のサブタイプである PPAR α は、肝臓における脂肪酸の代謝や中性脂質の代謝に関連する遺伝子の発現を制御している。PPAR α を強く活性化する化合物は高脂血症の治療薬となり得るが、一方プラスチック可塑剤、農薬などが齧歯類の実験において、PPAR α を介して酵素誘導、肝臓 DNA 合成、肝臓肥大、肝臓ガンの誘発などの影響を及ぼすことが知られている。従って PPAR α とリガンドの結合に関する情報は抗高脂血症薬の開発にとっても、化学物質の毒性予測にとっても有用である。そこで、まず PPAR α 結合活性が既知のリガンドと PPAR α との複合体モデルを作成し、ヒト PPAR α への結合に関する三次元定量的構造活性相関解析を行う。そしてここで得られたモデルを使って新規化学物質に対する活性予測を行う。

A. 研究目的

新規化学物質の PPAR α 活性を予測するためにまず、ヒト PPAR α のリガンド結合ドメイン（LBD）の立体構造情報と PPAR α 結合活性が既知のリガンドを使って複合体モデルを作成し、三次元定量的構造活性相関解析を行うことを目的とした。

B. 研究方法

PPAR α の LBD の X 線結晶解析実験による立体構造（1K7L）を基に、SYBYL FlexX を用いて、PPAR α 活性が既知の 12 個の化合物（次表参照）と PPAR α の LBD との複合体モデルを作成した。

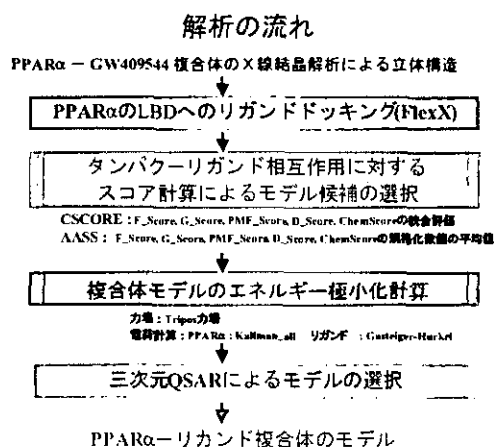
化合物	EC ₅₀ (μ M)	$-\log(\text{EC}_{50})$	ClogP
L-796449	0.004	8.39	8.76
GW9578	0.05	7.30	7.04
GW2433	0.17	6.77	7.57
GI262570	0.45	6.35	6.42
KRP-297	0.85	6.07	3.69
JTT-501 metabolite	1.9	5.72	2.48
GW7845	3.5	5.46	5.85
Wy-14643	5.0	5.30	3.24
L-165041	10.0	5.00	5.05
fenofibrate metabolite	30.0	4.52	4.50
bezafibrate	50.0	4.30	4.14
clofibrate metabolite	55.0	4.26	3.26

EC₅₀: 転写活性

ClogP: MacLogP 4.0 (Biobyte Corp.)

得られたモデルをスコア関数によって評価した後、選択したモデルを使って三次元定量的構造活性相関解析（Comparative Molecular Field Analysis: CoMFA）を行った。

解析の流れを次図に示す。



(倫理面への配慮)

既存の X 線結晶解析データを用い、コンピュータによる解析を行うため、倫理的に問題となるようなことはない。

C. 研究結果

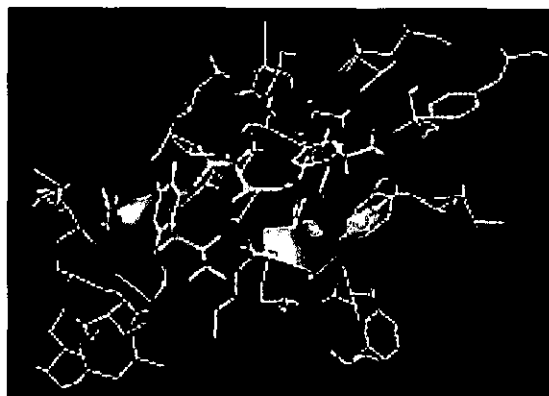
PPAR α 活性の既知の 12 個の化合物の複合体モデルから得られたリガンドの結合配座とアラインメントを使って三次元定量的構造活性相関解析 (CoMFA) を行い、静電相互作用、立体相互作用、ClogP から統計的に有意なモデル (予測的相関係数 q^2 :0.59(2 成分)) を得ることができた。

CoMFA の結果

Cross-Validation			Conventional					
q^2	S_{cv}	炭油 成分数	r^2	F	s	ST	EL	ClogP
0.66	0.87	3	0.99	451.2	0.11	68.7	31.3	-
0.49	0.90	2	0.90	38.5	0.45	39.5	28.7	32.7

ST : 立体相互作用 EL : 静電相互作用

また、得られた等高線情報 (静電相互作用、立体相互作用) は PPAR α の LBD のリガンド結合部位周辺のアミノ酸とその立体構造とが一致した (次図参照)。



緑色 : 立体的にかさ高い置換基があると結合親和性が上がる領域

黄色 : 立体的にかさ高い置換基があると結合親和性が下がる領域

青色 : 正の電荷を持つ置換基があると結合親和性が上がる領域

赤色 : 負の電荷を持つ置換基があると結合親和性が上がる領域

D. 考察

PPAR α リガンドと PPAR α のリガンド結合部位ドメインとの複合体モデルから得られた、PPAR α との結合に関与する PPAR α リガンドの官能基の三次元空間配置 (三次元ファーマコフォア) と CoMFA モデルを用いることにより、コンピュータ上での活性分子のデータベース探索 (*in silico* screening) や新規化合物の分子設計/活性予測を、比較的容易に行うことができるようになるものと思われる。

E. 結論

PPAR α 活性の既知の 12 個の化合物と PPAR α の LBD の複合体モデルから、統計的に有意な三次元定量的構造活性相関モデル (CoMFA モデル) を得ることができた。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

中込 泉、 広野修一 PPAR α -リガンド複合体のモデル構築と相互作用解析 日本薬学会第124年会(大阪) 2004.3.29 [第124年会日本薬学会講演要旨集 3 p.29 2004.3]

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
広瀬明彦	ダイオキシン	一色健司、豊田正武、西島基弘	食品の安全性評価と確認	サイエンスフォーラム	東京	2003	109-117
青木康展、松本理	環境汚染と健康リスク評価	分子予防医学研究会編	分子予防環境医学	本の泉	東京	2003	507-516
青木康展	ダイオキシン類の生物学的評価	竹内均監修	地球環境調査計測事典 第2巻 陸域編 2	フジ・テクノシステム	東京	2003	1048-1052

雑誌

著者名	論文タイトル	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Müller, L, Blakey, D., Dearfield KL., Galloway, S., Guzzie, P., Hayashi, M., Kasper, P., Kirkland, D., MacGregor, JT., Parry, J.M., Schechtman, L., Smith, A., Tanaka, N., Tweats, D., Yamasaki, H.	Strategy for genotoxicity testing and stratification of genotoxicity test results—report on initial activities of the IWGT Expert Group	Mutation. Research	540	177-181	2003
Kirkland, DJ., Hayashi, M., MacGregor, JT., Muller, L., Schechtman, LM., Sofuni, T.	Summary of major conclusion	Mutation. Research	540	123-125	2003
Hamada, S., Nakajima, K., Serikawa T., Hayashi, M.	The effect of aging on the results of the rat micronucleus assay.	Mutagenesis.	18	273-275	2003
Hamada, S., Nakajima, K., Namiki, C., Serikawa, T., Hayashi, M.	Sex differences in the chemical induction of micronuclei in the rat.	Environmental Mutagen Research.	25	33-37	2003
Koizumi, M., Noda, A., Ito, Y., Furukawa, M., Fujii, S., Kamata, E., Ema, M., Hasegawa, R.	Higher susceptibility of newborn than young rats to 3-methylphenol.	Journal of Toxicological Sciences	28	59-70	2003
広瀬明彦、江馬 眞、鎌田栄一、小泉睦子、長谷川隆一	ビスフェノールAの内分泌かく乱作用のヒトへの健康影響評価。	日本食品化学学会誌	10	1-12	2003
青木康展	化学物質の健康影響評価における緊急の課題	科学技術動向	2004年3月号	18-24	2004
青木康展	環境から暴露される化学物質の生体影響評価・変異原物質を例として	境変異原研究	25	187-197	2003
Ema, M, Harazono, A, Hirose, A, Kamata, E	Protective effects of progesterone on implantation failure induced by dibutyltin dichloride in rats	Toxicology Letters	143	232-238	2003
Ema, M. and Miyawaki, E., Hirose, A., Kamata, E.	Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobutyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate	Reproductive Toxicology	17	407-412	2003
Fukuda, N., Ito, Y., Yamaguchi, M.,	Unexpected nephrotoxicity induced	Toxicology	150	145-155	2004

Mitumori, K., Koizumi, M., Hasegawa, R., Kamata, E., Ema, M.	by tetrabromobisphenol A in newborn rats.	Letters			
Moriguchi T., Motohashi H., Hosoya T., Nakajima O., Takahashi S., Ohsako S., Aoki Y., Nishimura N., Tohyama C., Fujii-Kuriyama Y. and Yamamoto M.	Distinct response to dioxin in an arylhydrocarbon receptor (AHR)-humanized mouse.	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	100	5652-5657	2003
Sato H., K. Suzuki T., Sone H., Yamano Y., Kagawa J. and Aoki Y.	DNA adduct formation in lungs, nasal mucosa and livers of rats exposed to urban roadside air in Kawasaki City, Japan.	<i>Env. Res</i>	93	36-44	2003
Fukuzawa N.H., Ohsako S., Nagano R., Sakaue M., Baba T., Aoki Y. and Tohyama.C.	Effects of 3,3,4,4,5-pentachlorobiphenyl, co-planar polychlorinated biphenyl congener, on cultured neonatal mouse testis.	Toxicol. In Vitro	17	259-269	2003
Katane M., Fujita R., Takao E., Kubo Y., Aoki Y. and Amanuma H.	An essential role for the His-8 residue of the SDF-1 α -chimeric, tropism-redireted Env protein of the Moloney murine leukemia virus in regulating postbinding fusion events.	J. Gene Med.	6	260-267	2003
Nakamura T., Motoyama T., Hirokawa T., Hirono S., Yamaguchi I.	Computer-aided modeling of pentachlorophenol 4-monooxygenase and site-directed mutagenesis of its active site.	Chem. Pharm. Bull.	51	1293-1298	2003
Oda A., Hirono S.	Geometry-dependent atomic charge calculations using charge equilibration method with empirical two-center Coulombic terms.	J. Mol. Struct.	34	1293-1298	2003

20031272

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。