

分子軌道計算に基づく創薬分子設計：ABCG2による 抗癌剤耐性を回避する分子デザイン (東海大¹、東工大²、NEC³、産総研⁴)

○合田(日向寺)祥子^{1*}、野村淳磨²、櫻井実²、徳島大介³、
高田俊和³、長嶋雲兵⁴、中川大²、石川智久²

1. はじめに

イリノテカン (7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-pieridino]-carbonyloxycamptothecin: CPT-11) は有効な抗癌剤として広く用いられている。一方で、ヒトABC (ATP-binding cassette) トランスポータの1つである ABCG2 (BCRP/MXR/ABCP) が過剰発現する細胞株においては、CPT-11の活性中間体である SN-38 が細胞外に排出され薬剤耐性が生じる[1]。

ABCG2 による抗癌剤耐性を回避する分子デザインを行うことを目的とし、本研究では、分子軌道 (MO) 計算とニューラルネットワーク (NN) を用いて SN-38 と 14 のアナログの解析を行った。関連する実験の結果と合わせて報告する。

2. SN-38 の分子構造と薬剤耐性率

イリノテカン (CPT-11) の活性中間体である SN-38 はラクトン体とカルボン酸体の形をとるが、ABCG2 ではカルボン酸体 (図1) が基質となり、その輸送には Arg482 が重要な役割を果たしている[2]。

表1に、PC-6/SN2-5H2 (ABCG2 過剰発現した耐性細胞) による SN-38 と 14 のアナログに対する薬剤耐性率を示す[3]。ここで薬剤耐性率 (DRR : Drug Resistance Ratio) は、PC-6/SN2-5H2 (耐性細胞) と PC-6 (感受性細胞) の IC₅₀ の比で求めており、数値が大きくなるほど強い薬剤耐性を示すものである。

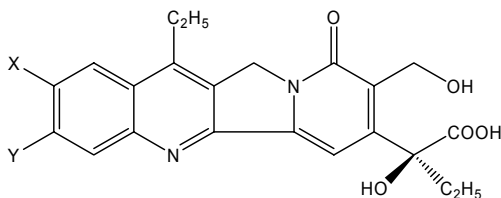


図1 SN-38 アナログ (カルボン酸体) の構造

表1 SN-38 アナログの薬剤耐性率 (DRR)

SN-38 アナログ	構造		DRR
	X	Y	
SN-22	H	H	3.5
SN-38	OH	H	262
SN-343	Me	H	2.4
SN-348	Br	H	2.9
SN-349	Cl	H	5.2
SN-351	H	Br	6.4
SN-352	H	Cl	2.6
SN-353	H	F	3.6
SN-355	H	OH	105
SN-364	Cl	Cl	2
SN-392	NH ₂	H	55
SN-397	OMe	F	13
SN-398	OH	F	213
SN-443	Me	F	1.8
SN-444	F	F	4.8

3. Methotrexate の輸送阻害実験

図2に SN-38 アナログによる Methotrexate の阻害率を示す。ここでは、薬剤耐性率の高い4つのアナログの他に、Cl 化合物による阻害能が高いことがうかがえる。

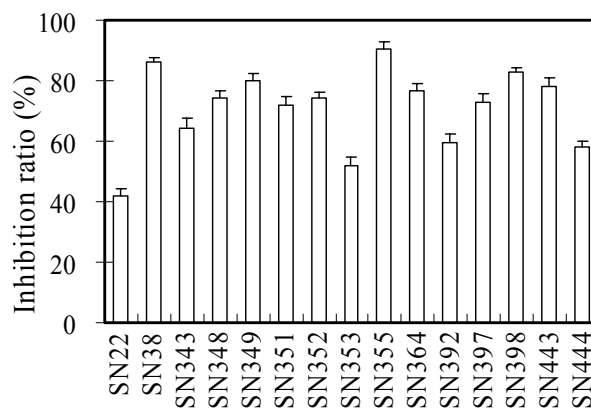


図2 SN-38 アナログによる Methotrexate 輸送の阻害率

*sachiko@cc.u-tokai.ac.jp

4. 計算化学的手法による解析

4.1 静電ポテンシャル

SN-38 アナログと ABCG2 の相互作用に関する知見を得るため、SN-38 およびアナログの静電ポテンシャルを分子軌道計算にて求めた。

MM と RHF (基底関数: MIDI-4) 計算により構造最適化後、RHF (基底関数: MIDI-4 + 分極関数) 計算により静電ポテンシャルを求めた。図 3 に 4 分子の静電ポテンシャル等値面を示す。

ABCG2 と親和性の高い分子 (SN-38、SN-349、SN-398) は特徴的な負の領域を持ち、ABCG2 の Arg482 と静電的に相互作用する可能性が示唆された。

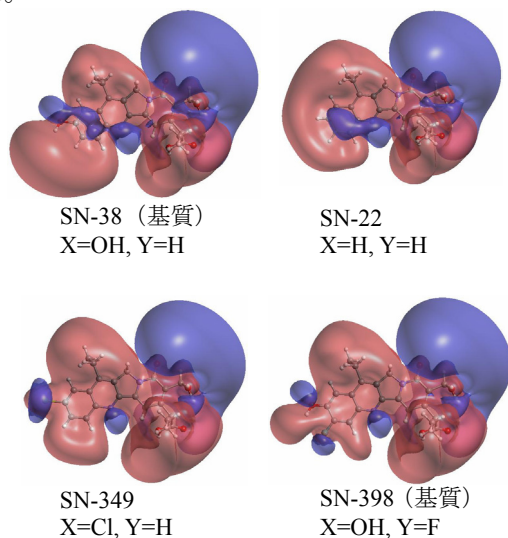


図 3 SN-38 アナログの静電ポテンシャル等値面

4.2 溶媒和自由エネルギー (ΔG) と疎水性パラメータ (LogP)

次に、溶媒和自由エネルギー (ΔG) と疎水性パラメータ (LogP) を、半経験的分子軌道法 (AM1 法) とニューラルネットワークを用いてそれぞれ計算した。ここで、 ΔG の計算には、以下の式を用いた[4]。

$$\Delta G = \Delta G_{\text{eps}} + \Delta G_{\text{non-polar}}$$
$$\Delta G_{\text{eps}} = E_{\text{COSMO}} - E_{\text{in vacuo}}$$
$$\Delta G_{\text{non-polar}} = (\text{SASA} * 0.00542 + 0.92)$$

E_{COSMO} : 溶媒中 (COSMO 法) の全エネルギー
 $E_{\text{in vacuo}}$: 真空中の全エネルギー
SASA : Solvation Accessible Surface Area

図 4 に ΔG および LogP と薬剤耐性率 (DRR) の相関を示す。いずれも相関があることが見て取れる。さらに、 ΔG では基質とそれ以外の分子を明

確に分類することができ、LogP の図からは Cl 化合物のみ他の化合物と異なる特性を有することが分かる。

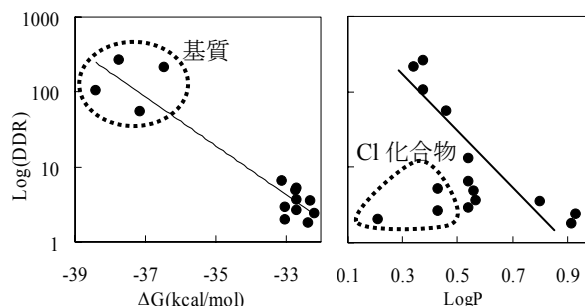


図 4 左 : ΔG と薬剤耐性率の相関
右 : LogP と薬剤耐性率の相関

5. まとめと考察

ABCG2 の基質認識と輸送のメカニズムを解明するため、実験と計算化学的手法を用いて得られた結果を示した。今回の報告では、(1) 基質の静電的性質が ABCG2 との親和性に関与している可能性 (2) 基質の親水 (疎水) 性が ABCG2 の輸送に関与している可能性 を示した。また、薬剤耐性率の高いアナログには OH 基もしくは NH₂ 基が存在することから、ABCG2 の基質輸送には水素結合が関与している可能性も示唆された。今後、これらの結果をもとに ABCG2 の基質認識および輸送メカニズムを提案したいと考えている。

参考文献

- [1] S. Kawabata, M. Oka, K. Shiozawa, K. Tsukamoto, K. Nakatomi, H. Soda, M. Fukuda, Y. Ikegami, K. Sugahara, Y. Yamada, S. Kamihira, L. A. Doyle, D. D. Ross, S. Kohno, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 280, 1216-1223 (2001).
- [2] M. Yoshikawa, Y. Ikegami, A. Hayasaka, K. Ishii, A. Ito, K. Sano, T. Suzuki, T. Togawa, H. Yoshida, H. Soda, M. Oka, S. Kohno, S. Sawada, T. Ishikawa, S. Tanabe, *Int. J. Cancer*, 110, 921-927 (2004).
- [3] H. Mitomo, R. Kato, A. Ito, S. Kasamatsu, Y. Ikegami, I. Kii, A. Kudo, E. Kobatake, Y. Sumino, T. Ishikawa, *Biochem. J.*, 373, 767-774 (2003).
- [4] D. Sitkoff, K. A. Sharp, B. Honig, *J. Phys. Chem.*, 98, 1978-1988 (1994).