

第 XI 因子・トロンビンと血小板膜糖蛋白 GPIb α および VWF 複合体の結合エネルギー計算

中山正光

東海大学内科学系循環器内科学

1. はじめに

動脈硬化や糖尿病の治療に適用される抗血小板療法は、血中の血小板細胞の機能（活性化、凝集）を化学的に阻害する。血管内における血栓症の発症（血栓イベント）は抑制するが、既存薬は阻害効果が強すぎるため出血の副作用が大きな問題となっている。血流下の血栓形成の要因となる血小板接着は血小板膜糖蛋白 GPIb α と von Willebrand 因子（VWF）の相互作用によって惹起される（図 1）。

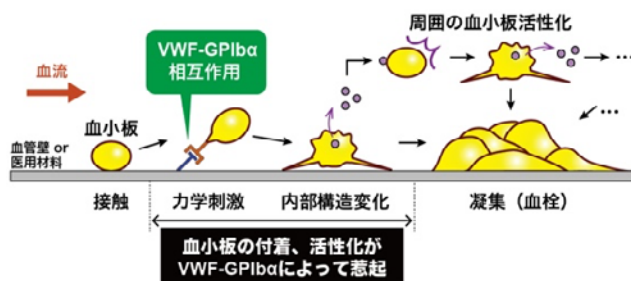


図 1 血流下における血小板相互作用

我々は、実証実験にて血小板接着に必須な血小板膜糖蛋白 GPIb α と von Willebrand 因子 (VWF) の相互作用に血液凝固因子の第 XI 因子 (FXI) とトロンビンが影響を与え、血栓形成に寄与するという知見を得た。これら 4 種のタンパク質の相互作用を分子動力学計算することで、出血イベントも血栓イベントも起こらない次世代の抗血小板薬の創薬標的モデルを作成する。血小板付着現象において中心的な役割をしている GPIb α および VWF の相互作用に対し、血液凝固因子に与える影響を分子動力学計算より明らかにした。過去の知見から凝固因子の対象として、第 XI 因子 (FXI) とトロンビンを選択したが、計算の都合上、本研究期間では FXI 因子について扱った。

2. 方法

GPIb α および VWF 複合体は先行研究のモデル (PDBID: 1SQ0) を使用¹し、FXI は結晶構造 (PDBID: 2F83) を用いた² (図 2)。実証実験から相互作用すると明らかになっているアミノ酸同士を約 5 Å に近づけた状態で初期構造を作成した。水分子を周囲 15 Å の領域に配置し、すべての原子の座標と速度ベクトルを 2×10^{-15} 秒毎に予測計算した。原子に作用する力として CHARMM (Chemistry at HARvard. Macromolecular) -36 力場を用いた。分子動力学計算のプログラムとして Nano

Scale Molecular Dynamics (NAMD) を用いて計算を実行した。

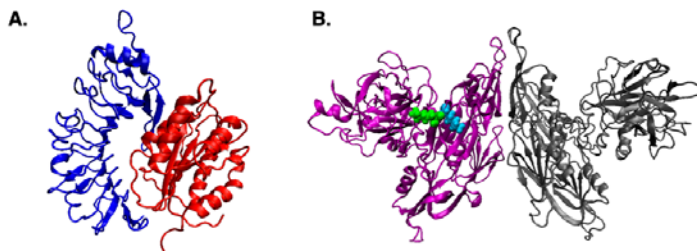


図2 計算に使用したモデル

(A. 青 GPIb α ・赤 VWF B. 紫 GPIb α 相互作用部位・灰 相互作用しない部位)

3. 結果

5×10^8 ステップの計算を行い、安定構造を予測した。Root mean square deviation (RMSD) を図3に示す。

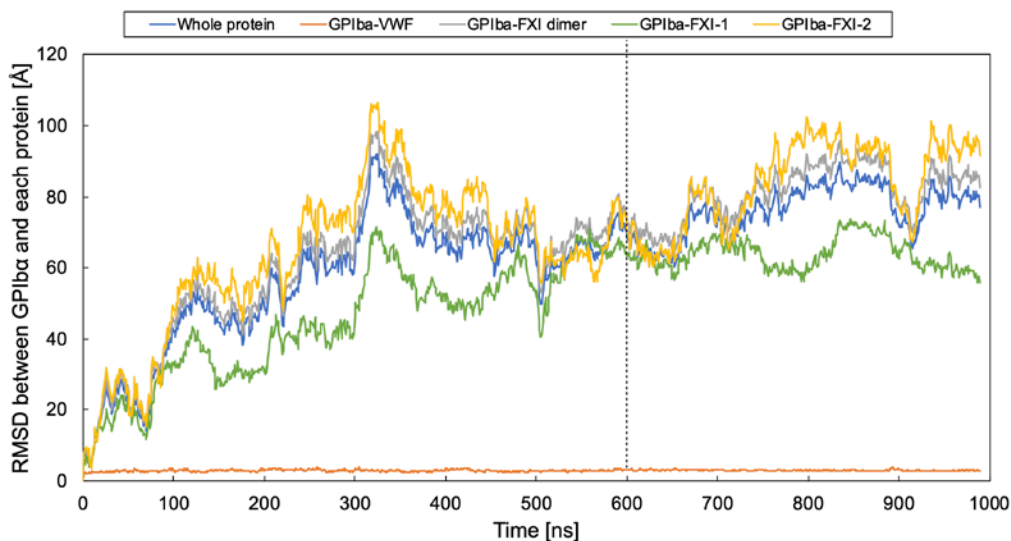


図3 対象モデルの平均二乗偏差の時間変化

計算時間中における GPIb α と VWF の平均二乗偏差 (RMSD) は GPIb α と FXI の RMSD よりも小さかった。FXI は計算開始から 300 ns 程度で GPIb (青) -VWF (赤) 複合体との安定構造を形成し始めた。GPIb α と相互作用した FXI-1 は 600 ns 以降、他の FXI 構造体に比べ安定していた。二量体の FXI (灰・紫) のうち、紫で示す部分の LYS253 (緑) が GPIb α の ASP73 (橙) と salt bridge (酸性アミノ酸と塩基性アミノ酸の間に形成) を形成し、相互作用していた (図4)。GPIb α と FXI の間にはこの1対以外の salt bridge は形成されなかった。タンパク質間に生じる非共有結合エネルギーについては GPIb α と VWF 間は GPIb α と FXI 間よりも負に大きく、安定していた。一方、GPIb α と VWF の間に形成される Salt bridge は6個あったが、FXI の相互作用によってその相互作用ペアが変化した。本研究から我々が構築したモデルにおいては、FXI は一対のアミノ酸によって GPIb α -VWF 複合体と相互作用し、その相互作用は GPIb α -VWF のものより弱いことが

明らかとなった。本研究では VWF は A1 ドメインを、GPIb α は N 末端ドメインのみを扱っており、実現象を完全に反映はできていない。

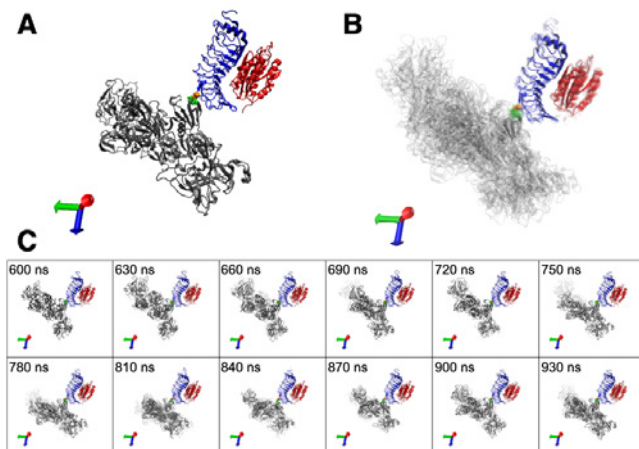


図 4 計算結果の時間経過の運動軌跡

(A. 960ns 計算後のタンパク質複合体の安定構造 B. 計算結果の重ね合わせ画像

C. 重ね合わせに使用した各軌跡の画像)

4. 結論

分子動力学計算を用いた安定構造予測から FXI は GPIb α と VWF の相互作用に影響を与えることが示唆された。分子動力学計算を用いた安定構造予測から FXI の GPIb α への結合により、GPIb α と VWF の結合構造の細部のみが変化した。

謝辞

本研究での計算は、東京大学情報基盤センター若手・女性利用者推薦制度（2020 年度）の援助を受け、Oakforest-PAC を利用した。

参考文献

1. S. Shiozaki, *et al.*, *J Atherosclero Thromb*, 2015
2. F.A. Baglia, *et al.*, *J Biol Chem*, 2004