

「マルチスケール・マルチフィジックス現象の統合シミュレーション」
平成 18 年度採択研究代表者

三上 益弘

(独)産業技術総合研究所 計算科学研究部門 副部門長)

「DDS シミュレータの研究開発」

1. 研究実施の概要

薬物を特定の患部にのみ運搬し、作用させることは、薬効を飛躍的に高める上でも、また副作用を少なくする上でも、極めて重要であり、薬剤を内包し運搬するキャリアー(薬物運搬体)の研究開発が進められている。このような薬剤運搬システム(以下、DDS と呼ぶ)の開発は、(a)薬剤分子を内包する DDS ナノ粒子(リポソームと糖鎖の複合体)を構成する脂質分子の設計から DDS ナノ粒子の形成プロセスの設計、(b)疾患部近傍の血管壁にある糖鎖認識タンパク質(レクチン)を認識する糖鎖の分子設計、(c)血管中の DDS ナノ粒子の輸送プロセスの設計まで、ナノスケールからミリスケールに及ぶマルチスケール・マルチフィジックス問題である。このため、設計技術は未だ確立されておらず、手探りで開発が進められている。そこで、本研究では、能動的標的指向性 DDS の有力な候補として注目されているリポソームシステムを対象にして、(1)DDS ナノ粒子設計、(2)糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析、(3)血管内における DDS ナノ粒子の流動解析を可能にするマルチスケールシミュレーション技術を開発し、(4)DDS シミュレータに統合し、DDS の設計技術を確立する。

2. 研究実施内容

本研究では、能動的標的指向性 DDS の有力な候補として注目されているリポソームシステムを対象にして、図 1 に示すように、(1)DDS ナノ粒子設計、(2)糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析、(3)血管内における DDS ナノ粒子の流動解析を可能にするマルチスケールシミュレーション技術を開発し、DDS シミュレータに統合し、DDS の設計技術を確立する。H18 年度は、グループ全体としては、研究体制(博士研究員の公募と採用)と研究環境(PC クラスターの購入)の整備を行った。また、本プロジェクトが今後5年間でもっとも効率のよい研究成果を得るために、(1)DDS 研究の現状調査・検討、および(2)解析方法や既存シミュレータの調査・検討を行い、今後の研究戦略を決定した。

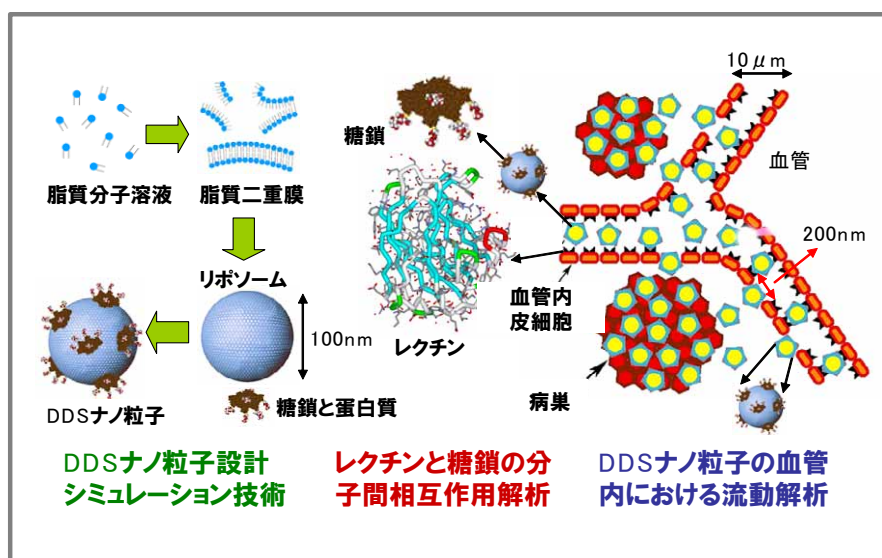


図 1. DDS シミュレータの概念図

(1) DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術の研究開発(G1)

薬剤を特定の患部にのみ運搬する DDS ナノ粒子を開発する上で、その本体であるリポソームのサイズと安定性、及びその表面を修飾する糖鎖の種類と数密度に関する情報が必要である。本研究では、DDS ナノ粒子のサイズを決定する因子(表面張力、温度、脂質分子濃度など)や形状を支配する因子(弾性的性質など)を解明するための分子シミュレーション技術を開発する。H18 年度では、下記の調査・研究を実施し、H19 年度からの本格的な研究の戦略を決定した。(1) 脂質分子の分子間相互作用の精密解析手法(基底関数系や電子相関の補正方法)を検討した。その結果、脂質分子の分子間相互作用を計算するには、大きな基底関数系と電子相関の評価に MP2 法を用いる必要があることが分かった。(2) DDS ナノ粒子は安定性を増すために、脂質分子やコレステロール、スフィンゴ糖脂質などを成分とする二重層膜から構成されている。この様なコレステロールを含んだ脂質二重膜ではその濃度増加による相分離現象が起こり、コレステロールとスフィンゴ脂質を主成分としたドメインが形成されることが知られている。実験結果からこのドメインは DDS ナノ粒子の安定性に影響を与えると考えられているが、その構造と物性は明らかでない。そこで、本研究ではこの多成分系の構造と物性を解明することを目標と決定し、これまでに、計算パラメータ・初期構造作成を行って、MD 計算の予備計算を行った。(3) リポソームの形成ダイナミクス及び各種物性における脂質分子構造の効果を探究するための粗視化モデル分子の構築と解析ツールの整備を行った。リポソームを構成する脂質分子を親水ビーズ・疎水ビーズで粗視化し、ビーズ径、分子鎖長などを系統的に変化させた初期配置を作成し、リポソームが生成される条件を探索するために粗視化分子動力学法を実行した。

(2) 糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析の研究開発(G2)

近年の糖鎖生物学の進展により、生物機能の多様性において細胞表面での糖鎖認識過程が重要な役割を担う事が明らかとなっているが、分子レベルでの糖基質認識の詳細な理解は殆ど得られていない。生物内の細胞間の分子認識、細胞接着、細胞内の物質の取り込みにはC型レクチンが重要な役割を果たす事が明らかとされているが、特に白血球の血管内壁への接着過程ではセレクトリンが重要な役割を果たす事が知られている。近年ヒトのE、Pセレクトリンに対して糖鎖を結合した結晶構造が得られた事により、ヒト体内における糖鎖-タンパク質間の分子間相互作用を理論計算により解析し、分子レベルの糖鎖認識の理解を得る為の準備が整いつつある。そこで本研究グループでは、(1)古典分子動力学計算による水中でのレクチン-糖鎖の動的な構造解析、(2)QM/MM計算を用いた複合体の高精度な構造精密化、更に(3)全系量子計算による分子間相互作用の精密な解析という一連の系統的な分子モデリングを通して、糖タンパク質セレクトリン-糖鎖間の相互作用の本質を明らかにする事を目標としている。H18年度は、(1)糖タンパク質に関してはヒトのE、Pセレクトリンの2点、(2)糖鎖としてはシアリルルイスX (sLeX)を対象として、QM/MM法によりEセレクトリンとsLeX複合体のモデル化と、予備的な計算を行った。その結果、Eセレクトリン複合体に関しては実験構造をほぼ再現できたことから、Eセレクトリン-sLeX間の分子間相互作用についても現実系を反映していると考えられる解析が実行できた。sLeXはC-タイプレクチンドメイン領域の表面に弱く結合しているだけであるが、糖鎖の認識に関与しているアミノ酸残基も、結合領域に存在するGlu、Arg等のごく限られた物である事が確かめられた。また相互作用エネルギーの解析結果は、QM/MMレベルでも全系量子計算レベルでも本質的に殆ど変化がないので、これは糖鎖の認識としては基本的に静電相互作用が本質である事を示唆している。

(3) DDS ナノ粒子の血管内における流動解析の研究開発(G3)

本年度は、DDS研究の現状を調査・検討し、解決すべき課題の絞り込みを行った。第1に、本プロジェクトでは血液流動を利用してナノスケールのリポソームを輸送することを目指しているが、他の研究目的でも血管系の流体解析を行っている例があるので、それらの一部が利用できるかどうか調査・検討した。いくつかの流体解析シミュレータは、マクロな血液流動の解析・表示等に利用が可能であることが分かった。第2に、臨床的な症例の収集や腫瘍の発生に伴って生じる組織内流れについてのデータを収集した。第3に、細胞レベルでの解剖学的な文献の調査を行った。とくに、血管内皮細胞には糖鎖分子が林立した特異な構造(glycocalyx:糖衣構造)が存在しており、この構造がリポソームの接近、透過に決定的な重要性をもつとの知見を得た。DDSの効率を高め、本プロジェクト内の他のグループ(G1およびG2)との密な連携をはかりながら、しかも他の類似研究に比して優位な展開が可能な戦略を検討した結果、G3グループとしては(i)リポソームが標的細胞に接近し、その細胞間隙を透過する過程、および(ii)腫瘍細胞に流入する血液の流路形成(血管新生)の過程、のシミュレーションを行うことが妥当であるとの当面の結論に達した。これまでのところ、組織内に腫瘍等が生じて細胞の粗度に不均一性が生じたり、異常増殖細胞の発生によつ

て血液流量が増加したりした場合に、それが引き起こす流体挙動を計算しており、それを利用して標的細胞に向けて効率的にリポソームを搬送する可能性を学会で発表した。またこれと平行して、糖鎖形状やその配置を考慮した流れの解析、リポソームとの相互作用についての予備計算を行っている。さらに、既存の流体解析シミュレータのテストを行い、血管分岐などのよりマクロな流れ計算の実行環境を構築中である。

3. 研究実施体制

(1)「産総研」グループ

① 研究分担グループ長：三上 益弘（産業技術総合研究所 副部門長）

② 研究項目

- ・ DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術の研究開発
- ・ 糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析の研究開発

(2)「農工大」グループ

① 研究分担グループ長：佐野 理（東京農工大学 教授）

② 研究項目

- ・ DDS ナノ粒子の流動解析技術の研究開発

(3)「東芝」グループ

① 研究分担グループ長：伊藤 聡（株式会社東芝 研究主幹）

② 研究項目

- ・ DDS ナノ粒子の流動解析技術の研究開発