

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	量子化学計算による環境中のニトロピレン類およびヘテロサイクリック芳香族アミン類の構造 変異原性相関
別タイトル	Structure Mutagenicity Correlation for Nitrated Pyrenes and Heterocyclic Aromatic Amines in the Environment by Quantum Chemical Calculation
作成者（著者）	山上, 三郎
公開者	東邦大学
発行日	2014.03
掲載情報	東邦大学大学院理学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 65.
資料種別	学位論文
内容記述	主査: 大島茂 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第746号
学位授与年月日	20140320
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD79072404">https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD79072404</a>

# 東邦大学審査学位論文（博士）の要旨

# 論文要旨

氏名 山上三郎 ©

## 論文題目

量子化学計算による環境中のニトロピレン類およびヘテロサイクリック芳香族アミン類の構造-変異原性相関

Structure-mutagenicity correlation for nitrated pyrenes and heterocyclic aromatic amines in the environment by quantum chemical calculation

## 論文要旨

ニトロピレン類 (NPs) はディーゼル排ガスから大気中に放出される変異原であり、ヘテロサイクリック芳香族アミン類 (HCAs) は加熱調理された魚・肉類の焦げに含まれる変異原である。NPs および HCAs はそれぞれ類似した分子構造を有しているが、その変異原強度 (Ames 試験値) は構造により大きく異なっている。本研究では、その差異を変異原物質の化学反応性に起因すると考え、生体内での代謝経路を構築して、分子軌道法計算により親分子および代謝体の反応性を調べた。さらに、NPs と HCAs の最終代謝体であるナイトレニウムイオンが DNA 塩基に結合する過程に着目し、結合前後のエネルギー変化、すなわち、変異原-DNA 結合体の結合エネルギーを求めた。結合体についてはより生体内での環境に近づけるため、3 あるいは 5 塩基対 DNA モデルを採用した。以上の計算で得られた諸量と変異原性強度との相関を詳しく調べた。

NPs は生体内で、ニトロソ体、ヒドロキシアミン体、アセトキシ体を経てナイトレニウムイオンになり DNA 塩基に結合する。親分子およびこれらの代謝体について、PM3 および STO-3G 計算を行い、生成熱、最高被占分子軌道エネルギー  $E_H$ 、最低空位分子軌道エネルギー  $E_L$  などを求めた。対象にしたのは、1-NP, 2-NP, 4-NP, 1,2-DNP (ジニトロピレン), 1,3-DNP, 1,6-DNP, 1,8-DNP の 7 種類である。また、DNA の塩基対配列は、シトシン(C)-チミン(T)-グアニン(G)とし、ナイトレニウムイオンを G に結合させて STO-3G 法で結合エネルギー  $\Delta E$  を算出した。親分子およびニトロソ体の  $E_L$  は、変異原性強度  $M$  の対数  $\log M$  とある程度相関し、その相関係数は、 $-0.58$ ,  $-0.65$  であった。これに対して  $\Delta E$  と  $\log M$  との相関係数は  $-0.83$  まで高くなった。また、結合体については、グアニン(G)-チミン(T)-グアニン(G)-グアニン(G)-グアニン(G)の 5 塩基配列で中央の G にナイトレニウムイオンを結合させて PM3 法計算を行い、STO-3G 計算とほぼ同様の結果を得た。これらのことから、NPs の変異原性は、DNA との結合体の安定性に大きく依存することが分かった。結合体の分子構造より、その安定性は、NPs のニトロ基とそれに近接する DNA の水素原子および酸素原子との相互作用によって生じることも分かった。

HCAs は生体内でヒドロキシアミン体、アセトキシ体を経てナイトレニウムイオンになり DNA 塩基に結合する。変異原性が異なる 13 種類の HCAs に対し、NPs の場合と同じ手法により PM3 計算を行った。その結果、NPs の場合と同様、HCAs の変異原性強度  $M$  の対数  $\log M$  と最も強く相関したのは結合体の結合エネルギー  $\Delta E$  であり、その相関係数は  $-0.89$  であった。その結合体は、HCA のメチル基と DNA リン酸の酸素原子との相互作用が強いほど安定化した。このことから、HCAs の変異原性についても、DNA との結合体の安定性が重要であることが分かった。さらに、結合体の解離反応速度を考察することにより、 $\Delta E$  と  $\log M$  との間の直線関係を説明することができた。

本研究の結果より、NPs と HCAs については、DNA 結合体の安定性が DNA 塩基配列の突然変異に大きな影響をおよぼし、変異原性の要因になることが強く示唆された。今後、結合体モデルを改良し、計算方法を検討することによって、発癌物質に対する構造-変異原性相関の精度はより高くなると期待できる。

論文審査の要旨及び審査結果の要旨

2011年 入学	研究分野 環境化学	氏名 山上 三郎
審査委員	(主査) 東邦大学 理学部 教授 大島 茂 (副査) 東邦大学 理学部 教授 尾関 博之 (副査) 東邦大学 理学部 准教授 朝倉 暁生 (副査) 東邦大学 理学部 准教授 齋藤 敦子 (副査) 産総研ナノシステム研究部門 総括研究主幹 長嶋 雲兵	
(論文題目) Structure-mutagenicity correlation for nitrated pyrenes and heterocyclic aromatic amines in the environment by quantum chemical calculation (量子化学計算による環境中のニトロピレン類およびヘテロサイクリック芳香族アミン類の構造-変異原性相関)		
(論文審査の要旨及び審査結果の要旨) 学位申請者である山上三郎は、日常環境中に存在する変異原物質ニトロピレン類と複素環式芳香族アミン類を対象として分子軌道法計算を行い、得られた物理化学的緒量と変異原性強度との相関を詳しく調べた。その結果、変異原物質と DNA との結合エネルギーが変異原性強度と強く相関することを見出した。この研究成果をまとめた学位論文は5章からなっている。 第1章では、発癌、特に化学発癌の機構を踏まえて、ニトロピレン類 (NPs) と複素環式芳香族アミン類 (HCAs) の構造-変異原性相関を調べる意義および本研究の新規性を論じている。NPs はディーゼル排ガスなどから大気中に放出されて肺癌の一原因になり、また、HCAs は加熱調理された魚・肉類の焦げに含まれ、肝臓癌・大腸癌などに関係する。NPs および HCAs はそれぞれ類似した分子骨格を有しているが、置換基の位置や数などにより変異原性強度 (Ames 試験値) は大きく変化する。申請者は、NPs と HCAs のこのような変異原性の差異をそれらの化学反応性に起因すると考え、量子化学計算によって分子構造から反応性を求め変異原性強度との相関を調べることにした。この種の研究は従来から行われてきたが、明瞭な相関は得られていなかった。申請者は、その原因として、従来の研究では分子を孤立した状態で扱ったことにあると考えた。そこで、癌が遺伝子の病気であることを踏まえ、さらにより生体内での反応環境に近づけるために3あるいは5塩基対からなる DNA モデルを導入した。そして、変異原物質と DNA 塩基の結合過程に着目して、結合前後のエネルギー変化、すなわち、結合エネルギー $\Delta E$ を求めて、変異原性強度		

との相関を調べるに至った。その点に本研究の新規性があると言える。

第2章では、本研究で用いた分子力学法および分子軌道法について、その概略を簡潔にまとめている。各分子およびDNA結合体の構造は、まず分子力学法(MMFF法)によって計算し、その後で半経験的分子軌道法(PM3法)あるいは非経験的分子軌道法(STO-3G法)により最適化した。また、HCA-DNA結合体の最適化は半経験的分子軌道法で行ったが、通常用いられるAM1法ではなく、PM3法を用いた経緯も説明している。

第3章では、ニトロピレン類(NPs)の構造-変異原性相関を論じている。NPsは生体内で、ニトロソ体、ヒドロキシアミン体、アセトキシ体を経てナイトレニウムイオンになりDNA塩基に結合する。親分子およびこれらの代謝体について、STO-3G計算を行い、生成熱、最高被占分子軌道エネルギー $E_H$ 、最低空位分子軌道エネルギー $E_L$ などを求めた。対象にしたのは、1-NP, 2-NP, 4-NP, 1,2-DNP(ジニトロピレン), 1,3-DNP, 1,6-DNP, 1,8-DNPの7種類である。また、DNAの塩基配列は、シトシン(C)-アデニン(A)-グアニン(G)とし、ナイトレニウムイオンをGに結合させて結合エネルギー $\Delta E$ を算出した。親分子およびニトロソ体の $E_L$ は、変異原性強度 $M$ の対数 $\log M$ とある程度相関し、その相関係数は $-0.58$ ,  $-0.65$ であった。これに対して $\Delta E$ と $\log M$ との相関係数は $-0.83$ まで高くなった。また、結合体については、グアニン(G)-チミン(T)-グアニン(G)-グアニン(G)-グアニン(G)の5塩基配列で中央のGにナイトレニウムイオンを結合させてPM3法計算もを行い、STO-3G計算とほぼ同様の結果を得た。これらのことから、NPsの変異原性は、DNAとの結合体の安定性に大きく依存することが分かった。結合体の分子構造より、その安定性は、NPsのニトロ基とそれに近接するDNAの水素原子および酸素原子との相互作用によって生じることも分かった。これらの内容の一部は *Polycyclic Aromatic Compounds*, **32**(2012)133-140 に発表された。

第4章では、ヘテロサイクリックアミン類(HCAs)の構造-変異原性相関を論じている。HCAsは生体内でヒドロキシアミン体、アセトキシ体を経てナイトレニウムイオンになりDNA塩基に結合する。変異原性が異なる13種類のHCAsに対し、NPsの場合と同じ手法によりPM3計算を行った。ただし、DNAの塩基対配列は、シトシン(C)-グアニン(G)-シトシン(C)とし、ナイトレニウムイオンを中央のGに結合させた。その結果、NPsの場合と同様、HCAsの変異原性強度 $M$ の対数 $\log M$ と最も強く相関したのは結合体の結合エネルギー $\Delta E$ であり、その相関係数は $-0.89$ であった。結合体は、HCAのメチル基とDNAリン酸の酸素原子との相互作用が強いほど安定化した。このことから、HCAsの変異原性についても、DNAとの結合体の安定性が重要であることが分かった。さらに、申請者はこの相関を次のように説明した。HCAナイトレニウムイオンとDNAとの結合反応では、正反応はイオンが関係する反応なのでHCAにあまり依存せずに速やかに進む。一方、逆反応では結合体の安

定性に依存してその速さが HCA によって異なる。つまり、逆反応のスピードが速いほど変異原性強度  $M$  は小さくなるはずである。さらに、反応の経路が同じであれば、逆反応の活性化エネルギー  $E_a$  は結合エネルギー  $\Delta E$  に比例すると考えられる。これらの仮定の下で、アレニウス式を用いて反応速度定数を計算し、変異原性強度  $M$  と関係づけた結果、「 $\Delta E$  は  $\log M$  に比例する」ことを導いた。この議論は NPs の場合にも当てはまる。これらの結果は *Polycyclic Aromatic Compounds*, **34**(2014)89-102 に発表された。

最終章の第 5 章では、以上の研究を総括し、NPs と HCAs については、DNA 結合体の安定性がそれらの変異原性と強く相関すること、逆に言えば、変異原と DNA との結合過程が変異原性強度を支配する大きな要因であると結論づけた。

論文審査では、計算方法選択の妥当性、変異原-DNA 結合体の構造に及ぼす温度の影響、 $\Delta E - \log M$  の相関から得られる情報などについて質問・コメントが出された。これらに対する質疑応答の結果は、本論文の最終訂正時に反映させることになった。このように部分的にはいくつかの指摘があったが、論文全体としては良い結果が出ており高い評価が得られた。実際、第 3 章と第 4 章の内容については、上記のように学術論文として既に公表済みである。

以上の研究成果は、環境中の化学物質の変異原強度を量子化学計算によって定量的に評価することを可能にした。さらに、本研究の結果は、化学発癌機構の詳しい解明、ひいては癌予防対策にも資すると期待される。これらの研究成果により、申請者は博士（理学）の資格を有することを審査員全員で認めた。