

審査の結果の要旨

氏名 妹尾 暁暢

本学位論文では、細胞接着蛋白質 P-カドヘリンを標的としつつ、当該標的の蛋白質-蛋白質間相互作用(PPI)および細胞接着形成を阻害する低分子の取得を目標に研究が展開されている。P-カドヘリンは様々な部位の癌組織において高発現し、癌浸潤への関与が報告されている疾患関連蛋白質である。細胞外の標的蛋白質には抗体を利用した制御が行われることも多いが、抗体医薬品には一般的に薬価や品質管理等の問題が避けられない。こうした高難易度な標的を如何に低分子によって阻害・制御するかという研究は重要な基礎研究領域である。本論文においては細胞接着の分子基盤である P-カドヘリン分子のホモ二量体化に対し、低分子阻害剤の取得系の構築、取得、ヒット化合物の阻害機構解明、その知見を活用した高活性化合物への展開が記述されている。その中には、P-カドヘリンは勿論、その他の疾患関連細胞接着蛋白質を制御する上で有用となる知見が多く内包されている。

本論文は 5 章から構成されている。第 1 章においては序論として、研究の背景および目的が語られる。第 2 章においては表面プラズモン共鳴(SPR)法を駆使した P-カドヘリンのホモ二量体化を阻害する低分子スクリーニングについて述べられている。第 3 章では、実際に第 2 章で得られてきたヒット化合物に関する阻害機構の解明を構造生物学的手法、生化学的手法、細胞生物学的手法、物理化学的手法、計算科学的手法を総動員して詳細に記述している。第 4 章では第 3 章で得られた知見を有効に活用して、より高親和性かつ高い細胞接着阻害活性を示す化合物の開発方法を示している。最終章である第 5 章においては第 4 章までで得られた知見を総括し、PPI 及び細胞接着を低分子で如何に制御するか、という観点から展望が語られる。

各章の内容を要約する。第 2 章では SPR を用いた低分子スクリーニングの系の構築及びスクリーニング結果が示されている。1 次スクリーニングでは P-カドヘリンのモノマー変異体に対する結合低分子が取得された。2 次スクリーニングにおいては新規なスクリーニング系が二つ構築され、ホモ二量体阻害効果が期待できる低分子が取得された。一連のスクリーニング系より細胞接着阻害効

果を示す複数の低分子化合物の取得に至っている。これらの系はホモ複合体に対する低分子スクリーニングの可能性を拓げる成果と言える。

第3章においては第2章で得られたヒット化合物がどのように細胞接着を阻害しているのかを詳細に記述している。まず X 線結晶構造解析によりヒット化合物の P-カドヘリン蛋白質分子上での結合位置を同定した。同結合ポケットは細胞接着形成過程において中間体のホモ二量体である X ダイマーの界面付近に位置していたことから当該ヒット化合物が X ダイマーを阻害すると仮定し、またその仮説を水素重水素交換質量分析法によって実証した。また X ダイマーを阻害する構造基盤が X ダイマーとヒット化合物の複合体結晶構造により与えられ、さらにその構造を利用した分子動力学シミュレーションによって X ダイマーに対するアンサンブルシフトがその阻害に寄与している可能性が示唆された。このヒット化合物は細胞接着の形成に対し阻害効果は示すものの、一度形成された細胞接着を解離させる効果は発揮しないことが細胞凝集試験より確認された。このことからヒット化合物はモノマーを起点として X ダイマーを形成する過程を阻害していることが示唆された。この仮説はリポソーム凝集試験および、合成展開を活用した構造活性相関によって支持された。以上より、ヒット化合物はアンサンブルシフトに伴う X ダイマー形成プロセスの阻害効果を示し、またそれが細胞接着形成阻害につながると強く支持された。

第4章では第3章で得られた知見を用いてドッキングスクリーニングが実施されている。X ダイマーの準安定構造と思われる構造に対しドッキングを実施することにより同構造に対し高親和性で結合すると考えられる低分子を取得し、細胞凝集試験においても優れた阻害能を発揮する結果を得ている。第3章で得られた X ダイマー形成プロセスの阻害が細胞接着阻害効果を発揮することを再現するとともに、同ポケットが創薬という観点からも有望な標的であることを実証した。

第5章においては第4章までで得られた結果を総括しつつ、展望を述べている。特に、PPI をアンサンブルシフトで阻害できる可能性及び、それが弱い親和性の低分子でも実現できることが提唱された。また、細胞接着のような不可逆的とも呼べる蛋白質機能複合体形成を低分子で阻害するための戦略が提案されている。

以上の内容は P-カドヘリンに対する阻害剤開発としてのみならず、一般に低分子による PPI 阻害および細胞接着制御の様式に対し重要な知見を与える重要な研究成果だと言える。よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。