

審査の結果の要旨

氏名 守谷 潤

NMR を用いた TRAF6 を標的とするタンパク質間相互作用阻害剤の創製と題する本論文は、細胞内シグナル伝達を仲介するアダプタータンパク質である腫瘍壊死因子 (TNF) 受容体関連因子 6 (TRAF6) と TNF 受容体スーパーファミリー (TNFRSF) とのタンパク質間相互作用 (PPI) に対する低分子阻害剤、TRI4 の創製、および TRAF6-TRI4 複合体立体構造解析に関する成果を述べたものである。本論文には、第 1 章に序論、第 2 章に実験材料と実験方法が記されている。第 3 章に実験結果がまとめられ、第 4 章でその結果に対する考察、第 5 章で結論が述べられている。

第 3 章および第 4 章においては、以下に記載する研究成果が述べられている。初期化合物探索においては、標的分子 TRAF6 の既知立体構造を利用し、machine-learning score function modified-multi target screening (MSM-MTS) と呼ばれる機械学習を取り入れた *in silico* スクリーニングを行い、4 個のヒット化合物を見出している。次に、これら化合物が TRAF6 に結合することを、NMR を用いて実験的に明らかにし、企図した化合物が実際に得られたことを確認している。最後に、これら 4 個のヒット化合物のうち、上記 NMR 解析において TRAF6 の安定性に影響を与えなかった化合物、TRI1 を合成展開品として選択している。

次に複合体立体構造に基づく化合物デザインを企図し、TRAF6 と TRI1 のドッキング計算を行い、スコア上位 10 個の構造モデルを提示している。これら 10 構造は、標的 PPI の鍵相互作用を形成する部位 (Pro site) に TRI1 が結合するモデルとしないモデルの 2 種類に分類されることが示されている。2 種のモデルのうちより確からしい構造モデルを実験データに基づいて選択するために、常磁性物質を用いた新規分子間結合界面決定手法を開発し、応用を行っている。本法は溶液中を自由拡散する常磁性物質が、タンパク質表面に存在する炭素核の NMR シグナルに誘起する化学シフト変化 (常磁性シフト; PS) に基づく手法である。結合界

面決定方法のコンセプトは、複合体形成による界面の溶媒露出度の減少を、PS を指標として検出するものである。本論文においては、上記コンセプトを ubiquitin-yeast ubiquitin hydrolase1 相互作用系をモデルケースとして証明し、次に TRAF6-TRI1 相互作用の解析に応用している。解析の結果、TRI1 結合に伴い TRAF6 の Pro site における PS が減少したことから、TRI1 が Pro site に対して相互作用する構造モデルが確からしいことを示している。

続いて、本立体構造モデルと TRAF6-TNFRSF 複合体結晶構造の比較に基づき TRI1 の延伸（合成展開）を行った結果、結合親和性が 50 倍向上し内在性ペプチドの親和性を上回る化合物、TRI4 の創製に成功している。TRI4 は、新規骨格を有する TRAF6-TNFRSF 相互作用阻害化合物であり、内在性リガンドよりも高い親和性で TRAF6 に結合することが報告された初の化合物である。

次に、TRI4 の作用メカニズムを明らかにするために、TRAF6-TRI4 複合体の立体構造解析を行っている。NMR (INPHARMA・DIRECTION) により得られる結合界面に関する立体構造情報とドッキング計算を組み合わせ、実測 NMR データと合致する構造モデルを構築している。本構造モデルから、TRI4 において導入したクロルメトキシベンゼンが、内在性ペプチドと異なる TRAF6 表面に相互作用することで結合親和性向上が達成されたと主張している。

第 5 章にまとめられている通り、本研究結果は、一般的に広い界面を有する PPI の阻害には必ずしも界面全体を直接阻害する必要はなく、一部の鍵相互作用阻害で十分な場合があることを示す成果であり、有望な創薬標的群である PPI に対する化合物探索一般にも応用可能性のある概念を提示するものである。

以上の成果は、NMR と計算科学的手法を適切に組み合わせることにより、これまでほとんど知られてこなかった TRAF6 に結合する新規 PPI 阻害剤を創製し、その作用メカニズムを立体構造の観点から明らかにしたものであり、得られた知見は他の PPI 化合物探索にも応用可能である。これを行った学位申請者は博士(薬科学)の学位を得るにふさわしいと判断した。よって本論文は博士(薬科学)の学位請求論文として合格と認められる。