

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	創薬標的タンパク質に作用する化合物の同定と作用機構に関する結晶学的研究
Title(English)	
著者(和文)	天野靖士
Author(English)	Yasushi Amano
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:乙第4126号, 授与年月日:2016年3月31日, 学位の種別:論文博士, 審査員:中村 聡,小林 雄一,丹治 保典,和地 正明,福居 俊昭,村上 聡,八波 利恵
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:乙第4126号, Conferred date:2016/3/31, Degree Type:Thesis doctor, Examiner:,,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(論文博士)

論文要旨 (和文2000字程度)

報告番号	乙 第 号	氏 名	天野 靖士
<p>医薬品の研究開発は、長い期間を要する一方、その成功確率は低い。より早く、より確実に新薬を患者へ届けるために、様々な工夫がなされている。その1つが、タンパク質結晶構造解析を活用した創薬研究である。結晶構造解析により、創薬標的タンパク質の構造や作用する薬剤候補物質の結合様式を原子レベルで解明することができ、薬剤候補物質の最適化合成や作用機構の解明を促進し、研究期間の短縮や研究の進展に寄与することができる。</p> <p>本研究では、創薬研究の初期段階にある3つの創薬標的タンパク質、可溶性エポキシド加水分解酵素 (sEH)、<i>Trypanosoma cruzi</i>由来スペルミジン合成酵素 (TcSpdSyn)、5型17β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (17β-HSD5)に着目し、結晶構造解析を活用して、それらに作用する低分子化合物の同定ならびに作用機構の解明を行った。また、アンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) の1つであり高血圧治療に用いられるテルミサルタンがペルオキシソーム増殖因子活性化受容体γ (PPARγ) を部分的に活性化する機構を、結晶構造解析により明らかにした。</p> <p>以下に、本研究で得られた成果を要約する。</p> <p>降圧剤あるいは抗炎症剤の有望な標的タンパク質であるsEHに作用する低分子化合物を同定するため、フラグメント化合物のスクリーニングおよび複合体結晶構造解析を行った。解明されたフラグメント化合物の結合様式から、既知のsEH阻害剤とは異なる基本骨格、ジヒドロチアゾール、ベンズイミダゾール、エチルメチルアミンが触媒3残基と水素結合することが明らかとなった。また、広いL字型の触媒ポケットの中の様々な部位に化合物が結合する様子が認められ、化合物と特異的あるいは非特異的に相互作用する部位を特定することができた。これらの構造情報に基づき、sEH阻害剤を探索した結果、強い阻害活性を示す化合物19の同定に至った。</p> <p>シャーガス病の原因となる寄生原虫であるT. cruziに対する薬剤候補物質を同定するため、T. cruziの生存に必須であると考えられるTcSpdSynを標的としてフラグメント化合物のスクリーニングおよび複合体結晶構造解析を行った。フラグメント化合物の結合部位は、プトレシン結合ポケットと二量体界面の2種類があった。プトレシン結合ポケットには誘導適合機構が存在することが明らかとなった。一方、二量体界面では、非競合阻害機構が存在することが明らかとなった。</p> <p>去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) の治療法として有望な17β-HSD5阻害剤の開発に向け、HTSに由来する低分子化合物との複合体結晶構造解析を行った。化合物の結合によりタンパク質構造が大きく変化することが明らかとなり、その結果、新しい2つの結晶系が生じた。化合物29は、ピラゾール環がオキシアニオンサイトに結合し、その窒素原子が2つの触媒残基、Tyr55、His117と水素結合していたが、これは酸素原子以外が、17β-HSD5の触媒残基と水素結合するはじめての例である。化合物31、32の結合、特に32の結合においては、誘導適合機構により、新たにトンネル様の疎水性ポケットが形成されることが明らかとなった。この機構により、32が低分子量ながら強い阻害活性を有していると考えられた。</p> <p>テルミサルタンとPPARγ、さらに活性化補助因子SRC1に由来するペプチドの3者複合体の結晶構造を決定した。テルミサルタンの結合様式から、そのPPARγ活性化作用は、ピオグリタゾンなどの強いPPARγアゴニストと同様に、H12ヘリックスの構造を活性化補助因子が結合できるような形に安定化させていることで生じていると考えられた。一方、活性化が部分的である理由として、H12ヘリックスとの相互作用が十分でなく、動的な構造の中で活性化補助因子にとって最適な構造が占める割合が少ない可能性が示唆された。</p> <p>本研究で明らかとなった、sEH、TcSpdSyn、17β-HSD5に作用する低分子化合物とそれらの結合様式、作用機構を基に、阻害剤研究さらには治療薬の開発研究が促進されることが期待される。また、テルミサルタンの結合様式に基づいた最適化合成により、糖尿病と心血管疾患に対して高い治療効果を有する薬剤の創製につながることが期待される。本研究では、タンパク質結晶構造解析を最大限に活用して創薬研究を実施し、低分子化合物の同定やその作用機構の解明を行った。フラグメント化合物の利用や、ハイスループットスクリーニング (HTS) に由来する化合物の解析など先進的な取り組みを含んでいる。本研究での取り組みは、創薬研究を効率的かつ迅速に進めるために、今後も大いに参考にすべきものであると考えている。タンパク質結晶構造解析を十二分に活用することにより、より早く、より確実に新薬が患者のもとへ届けられることを期待している。</p>			

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(論文博士)

論文要旨 (英文)

(300語程度)

(Summary)

報告番号	乙 第	号	氏 名	Yasushi Amano (天野 靖士)
<p>Research and development of new drugs requires long periods of time. To discover new drugs efficiently, protein crystallography have been utilized. Protein crystallography can reveal structures of target proteins, binding modes of drug candidates, and their mechanisms.</p> <p>In this study, three drug target proteins were focused; soluble epoxide hydrolase (sEH), <i>Trypanosoma cruzi</i> spermidine synthase (TcSpdSyn), and type5 17β-hydroxysteroid dehydrogenase (17β-HSD5). In addition, the partial agonism of telmisartan against peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) was investigated.</p> <p>To identify fragment compounds inhibiting sEH, screening campaigns and structural analysis were carried out. As a result, novel scaffolds were found to interact to the catalytic triad of sEH. In the catalytic pocket of sEH, various binding sites of compounds were found. Based on the structural information, more potent sEH inhibitors were identified.</p> <p>For development of new drugs against <i>T. cruzi</i>, which causes Chagas' diseases, screening of fragment compounds and structural analysis was carried out. Fragment compounds bound to either the putrescine binding pocket or the dimer interface. In the putrescine binding pocket, the "induced-fit" mechanism was observed. In the dimer interface, the allosteric inhibition mechanism was observed.</p> <p>For therapy of castration resistant prostate cancer (CRPC), 17β-HSD5 inhibitors have been developed. Crystal structures of complexes of various inhibitors derived from high throughput screening were solved. Conformational changes of 17β-HSD5 were occurred upon the binding of inhibitors and make new sub-pocket in the catalytic pocket. In addition, novel scaffolds including the pyrazole ring were identified to bind to the oxyanion site.</p> <p>The crystal structure of the ternary complex of PPARγ, Telmisartan, and the coactivator peptide was solved. It is suggested that the suboptimal interaction between Telmisartan and H12 helix relates to the partial agonism by Telmisartan.</p> <p>This study demonstrated that protein crystallography can reveal the mechanism of action of the compounds. Utilization of protein crystallography is expected to facilitate the drug discovery research.</p>				

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).