


(様式2)

京都ヘルスサイエンス総合研究センター共同研究実績報告書

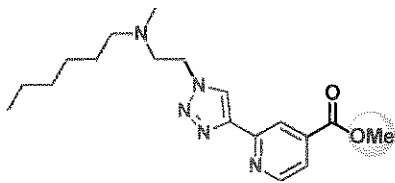
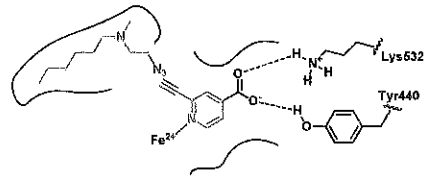
令和2年3月9日

	グループ名	創薬研究グループ		グループ長 氏名	京都薬科大学・教授 赤路健一	
研究の名称	健康長寿社会の実現に向けた疾患関連因子の探索と制御					
研究の概要	<p>近年の急激な超高齢化の進展に伴い、がんやアルツハイマー病あるいは生活習慣病の前段階となるメタボリックシンドロームの制御が健康長寿社会の実現に向けた喫緊の課題となっている。本共同研究では、これら超高齢化社会特有の疾患発症に深くかかわっている蛋白質や代謝経路の機能調節因子探索とその制御を目的とし、大学連携研究組織に基づく有機的な連携研究を実施した。</p> <p>本連携研究で治療をめざす具体的疾患としてがんとアルツハイマー病ならびに脂質代謝異常を取り上げた。がん治療薬については、細胞増殖の遺伝子発現調節にかかわるリシン脱メチル化酵素機能調節分子の開発を進めた。アルツハイマー病では、発症原因とされるアミロイドβ分子産生抑制剤の構造最適化を進めた。脂質代謝異常については、ショウジョウバエを利用して各種脂質代謝関連遺伝子の機能を検討した。これらの研究を、大学連携による共通の化合物ライブラリーを基盤として網羅的に実施した。</p>					
研究金額	2,000 千円 (内訳は別紙の決算書のとおり)					
研究組織の体制 (注1)	所属・職名	氏名	専門分野	役割分担	研究経費額	
	京都薬科大学・教授	赤路健一	薬品化学	研究取りまとめと化合物評価	800,000円	
	京都工芸繊維大学・教授	亀井加恵子	生体分子工学	化合物評価	400,000円	
	京都府立医科大学・准教授	伊藤幸裕	医薬品化学	化合物調製と酵素活性評価	400,000円	
	京都府立大学・教授	椿 一典	有機合成化学	化合物調製	400,000円	
企業の参加内容 (注2)	<p>該当なし</p> <p>今年度申請時において企業参加が必ずしも求められていなかったため、研究の進展に応じて企業選択を考慮するものとしたため。</p>					
研究成果等 (注3)	<p>本連携研究では、それぞれの研究室で独自に確立してきた方法論を統合し、細胞増殖の遺伝子発現調節にかかわるリシン脱メチル化酵素機能、アルツハイマー病発症原因とされるアミロイドβ分子産生、及び脂質代謝異常にかかわる各種脂質代謝関連遺伝子、に焦点を絞った連携研究を実施した。</p>					

京都府立医科大学の伊藤、京都薬科大学の赤路および京都工芸繊維大学の亀井は各種候補化合物の一次評価を実施した。あわせて、京都府立医科大学の伊藤と京都府立大学の椿が昨年度に引き続きそれぞれ独自の合成法に基づく新規化合物の供給を行った。以下に各研究成果の概要を説明する。

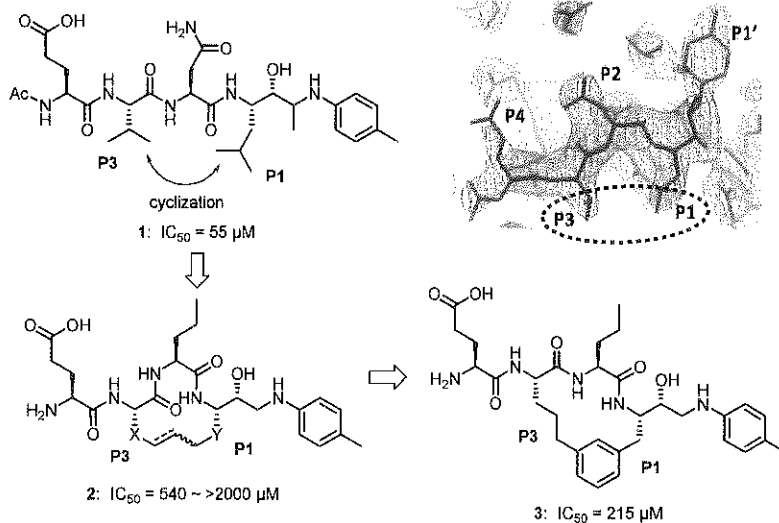
(1) 神経変性疾患治療薬を思考したエピジェネティクス酵素に対する阻害薬同定

本研究では、エピジェネティクス関連酵素を標的とした阻害薬創製を目的として *in situ* クリックケミストリーを利用し、エピジェネティクス関連酵素を標的とした阻害薬を見出した。新たな *In situ* クリックケミストリーとして、活性中心に金属イオン (M^+) を持つ酵素を標的とする手法を考案した (右図)。本法では、アルキンフラグメントとして 2-ethynyl pyridine を用意し、ピリジン環の窒素原子が酵素上の M^+ に配位することでアルキンを活性化させることを期待した。また、生じたトリアゾールとピリジンの M^+ に対する二座配位による高い阻害活性も期待した。この考えの下、エピジェネティクス制御因子の一つであるリシン脱メチル化



酵素に対する阻害薬の同定を試みた。その結果、高い阻害活性・選択性を示す阻害薬 (左図) を同定した。見出された化合物は *in vivo* において抗うつ作用を示し、抗うつ薬としての応用が期待できる。

(2) ペプチド性阻害剤からの架橋構築に基づく低分子化 BACE1 阻害剤創製



これまでに、基質遷移状態概念に基づき設計されたペプチド性阻害剤 1 と BACE1 との共結晶の X 線結晶構造解析から、P1 側鎖と P3 側鎖の間に大きな疎水性空間の存在を示すデータを得ている (上図)。そこでこの高活性誘導体を基盤に、P1-P3 側鎖間に直鎖架橋構造の導入を行い最適な環サイズの同定を行った。P1 及び P3 位の側鎖末端にアルケンを有する誘導体を合成し、オレフィンメタセシス反応により架橋構造の構築を行うことで 12-15 員環の誘導体 2 を合成し、活性評価を行った。その結果、いずれの架橋型誘導体も活性が大幅に減弱したが、13 員環のアルケン架橋型誘導体でのみ中程度の活性が維持された。これらの結果から、環サイズとしては 13 員環が適切であるが、単純な直鎖架橋では P1-P3 間の疎水性空間を適切に占

有することができないことが示唆された。そこで疎水性ポケットの占有率を上げるため、架橋構造中にベンゼン環を含むアリール架橋型誘導体 **3** を合成・評価したところ、活性の向上が確認され、かさ高い置換基の架橋構造への導入が活性向上に有効であることが示された。

(3) ショウジョウバエモデルを用いた脂質代謝関連遺伝子の機能解明

これまでショウジョウバエを用いて、メタボリックシンドロームに関連する遺伝子の機能解析、治療候補物質の探索系の構築などを行ってきた。今年度は、脂質代謝関連遺伝子の機能解析を実施した。

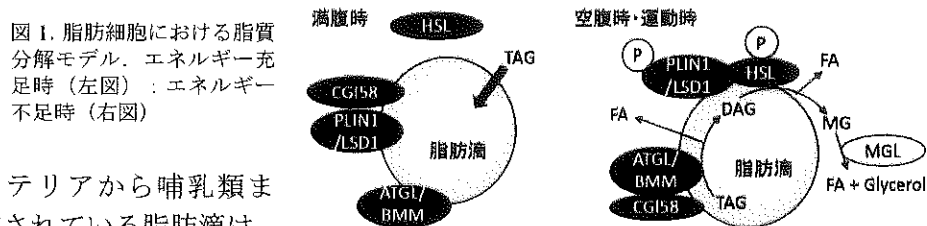


図1. 脂肪細胞における脂質分解モデル. エネルギー充足時(左図): エネルギー不足時(右図)

細菌から哺乳類まで保存されている脂肪滴は、トリグリセリドやコレステロールを貯蔵する細胞小器官で、脂肪滴の脂質分解を制御している。その制御を担う中心分子が、脂肪滴表面タンパク質ペリリピン1 (PLIN1) で、PLIN1のショウジョウバエホモログがLipid droplet storage 1(LSD-1)である。ショウジョウバエはヒト遺伝子の60%、ヒト疾病遺伝子の75%に相当するオルソログ遺伝子を持ち、代謝や細胞内シグナルなどもヒトと共通している。ショウジョウバエLSD-1の非エネルギー代謝機能を解析した結果、炎症の制御、発生過程の制御が認められた。したがって、脂肪細胞のLsd-1のノックダウンは炎症のモデルとして、抗炎症治療薬のスクリーニングに有用であると考えられる。今後、LSD-1による炎症の制御機構、発生過程においてはJNKシグナルの相互作用機構を明らかにする予定である。

科研費等外部資金への応募状況

平成30年度私立大学研究ブランディング事業


研究成果が4大学連携にもたらす意義等

本研究で進めようとしている疾患関連酵素あるいは分子の機能調節分子探索研究は、それぞれのグループの持つ合成技術や特徴的化合物群とその機能評価系を有機的に連携させ、化合物評価を多面的・網羅的に進めようとするものである。今年度は、昨年度までの実績を基盤とする新たな機能分子の探索方法の検討と新たな視点に基づく脂質代謝研究を展開できた。これらの研究により、作用機序解析を分子レベルで解析できる手法の開拓が進み、新たな機能分子探索を継続することが可能になった。このような横断的研究組織の構築は、大学連携に基づく新たな研究組織を基盤とすることにより可能となったもので、単独の研究グループが持つ評価系のみでは着想困難な新たな骨格と機能を持ったシーズ化合物の発見が期待できる。

- 注1 「研究組織の体制」欄において、4大学に所属する研究者及び参加企業に所属する研究者等に関しては、研究経費額(単位:千円)を記載すること。
- 注2 「研究組織の体制」欄に企業からの研究経費額の記載がない場合等、企業の共同研究参加の具体的内容について記載すること。
- 注3 次年度以降も引き続き計画する予定の共同研究については、「研究成果等」欄に次年度以降の計画内容等を記載すること。
- 注4 本実績報告書は、タテ方向に枠を広げてかまわないが、別紙を除いて3ページ以内とすること。

別紙

京都ヘルスサイエンス総合研究センター共同研究実績報告書の決算書

研究代表者	グループ名	創薬研究グループ	グループ長 氏名	京都薬科大学・教授 赤路健一 
研究の名称	健康長寿社会の実現に向けた疾患関連因子の探索と制御			
研究金額	2,000 千円			
区分	金額 (単位: 千円)	内 訳 等		
賃金	0			
旅費交通費	0			
消耗品費	1,605	有機合成用試薬等 360千円 (京都府立医科大学) 生物試験用試薬等 40千円 (京都府立医科大学) 合成試薬およびガラス器具 405千円 (京都薬科大学) 生物試験用試薬・血清等 400千円 (京都工芸繊維大学) 合成用試薬 374千円 (京都府立大学) ガラス器具 26千円 (京都府立大学)		
通信運搬費	0			
備品費	0			
図書費	0			
その他経費	395	質量分析機部品 (LCMS-2010EV用ターボポンプおよびロータリーポンプ) (京都薬科大学)		
合計	2,000			