

生体酵素および受容体の精密活性制御に向けた機能性分子の設計

植木, 亮介

<https://hdl.handle.net/2324/1500676>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（工学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 植木 亮介

論 文 名 : 生体酵素および受容体の精密活性制御に向けた機能性分子の設計

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

生体機能の発現において重要な役割を果たすタンパク質の機能異常は、様々な疾病の原因となることが知られている。中でも生体内での化学反応を触媒する「酵素」と生体分子による情報伝達を担う「受容体」の異常活性は代謝疾患、がんなどの重大な疾病と関連する。そのため、これら酵素・受容体の機能を制御する分子の開発は、その反応機構や疾病との関連性の解明、更には疾病治療といった多様な観点から重要視されている。このような背景から、現在では膨大な化合物ライブラリの中から目的のタンパク質機能を調節する化合物を選択・創製する方法論が確立されつつある。しかし、その効率や合理性といった観点からは未だに改善の余地が残されており、必ずしも実用に耐え得る化合物が得られているとは限らないのが現状である。そこで本論文では、合理性と効率に着眼したアプローチによって、生体酵素および受容体の精密活性制御を実現する分子の開発を試みた。

第1章では緒言として、酵素・受容体の活性を制御する分子である、阻害剤、アゴニスト、アンタゴニストについてその実例を交えて概説した。その後、これらの機能性分子の探索及び開発について紹介し、本研究での着眼点および目的について述べた。

第2章では、化合物ライブラリからの酵素阻害剤探索における問題点に着目し、生体組織または生物個体内での酵素活性検出を指向した分子ツールの開発を行った。具体的には、神経疾患との関連が指摘されるモノアミン酸化酵素を標的として、その活性検出に向けた核磁気共鳴 (NMR) プローブ分子の開発を試みた。NMR による解析で問題となる生体内成分からのバックグラウンドシグナルを克服するため、天然存在比約 1%の ^{13}C 核にて二重標識されたプローブ分子を設計・合成した。このプローブ分子を1次元多重共鳴 NMR 技術によって検出し、マウス臓器破碎液中での高選択的な酵素活性検出を実現した。この検出系を用いて、マウス臓器破碎液中のモノアミン酸化酵素活性を抑制する分子の *in situ* スクリーニングを行った。その結果、従来法での解析結果からは正確に予測することが困難であった、生体試料中での阻害能をモニタリングすることに成功した。本プローブ分子を用いることで、目的の臓器での阻害剤の薬効評価および副作用の正確な予測を実現し、精密な酵素阻害剤の開発に貢献することが期待される。

第3章では、受容体活性を制御する分子の開発に向け、より直接的なアプローチとして分子進化工学的に取得されるリガンド分子に着目した。具体的には試験管内進化法によって創製される核酸アプタマーを用いて、がん細胞の増殖・転移に関連することが知られる c-Met 受容体型チロシンキナーゼ (c-Met) の機能制御を試みた。核酸の二次構造から結合モチーフを特定した 50 塩基の c-Met アプタマーは、c-Met の天然のリガンドである肝細胞増殖因子 (HGF) の生理作用を遮断するアンタゴニストとして機能することが見いだされた。これまでに c-Met の活性を抑制する様々な阻害剤・アンタゴニストの抗がん剤としての応用が試みられていることから、本アプタマーの分子医薬

としての応用可能性を探ることとした。特に本章では、がんの転移に関連する細胞の運動性亢進に着目し、*in vitro* モデルにおける評価を行った。その結果、本アプタマーは HGF によって誘起されるがん細胞の遊走を強く抑制する効果を持つことが明らかとなった。この結果から、本アプタマーはがん細胞の転移に対する新たな分子医薬の基本骨格となることが期待される。

第 4 章では、HGF の生理作用および医療応用への可能性に着目し、3 章で利用した c-Met 結合性核酸アプタマーから c-Met を活性化するアゴニストを設計することを試みた。具体的には、HGF の作用機序を模倣した核酸アプタマーの二量体を設計することで、c-Met の活性化を誘起することに成功した。また、本アゴニストの構造を DNA 配列に基づき精密に設計することで、用いるアプタマーの親和性、価数、リンカー長等が活性化効率に与える影響を評価した。その結果、本アゴニストの活性化効率はアプタマー間の距離によって制御可能であることが見いだされた。このようなチロシンキナーゼ受容体に結合する二価リガンド間の距離に着目したアゴニストの設計指針は、受容体活性化機構の解明および、その活性制御に向けた機能性分子の設計に有用な知見となる。また、本アゴニストは HGF と同様に下流のシグナル伝達分子の活性化、更には細胞遊走といった細胞機能の発現を誘起することが確認された。本アゴニストが核酸のみから構成され、化学合成可能であることを考慮すると、将来的には天然の成長因子に代わる有用な代替品としての応用が期待される。

第 5 章では結言として、本論文の意義および得られた知見について総括した。