

## 細胞内タンパク質を標的とした反応化学の開拓と不可逆阻害剤への応用

徳永, 啓佑

<https://hdl.handle.net/2324/4784550>

---

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (創薬科学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏 名	徳永 啓佑
論 文 名	細胞内タンパク質を標的とした反応化学の開拓と不可逆阻害剤への応用
論文調査委員	主 査 九州大学大学院 教授 王子田 彰夫 副 査 九州大学大学院 教授 大嶋 孝志 副 査 九州大学大学院 講師 川西 英治 副 査 九州大学大学院 講師 森本 浩之

## 論文審査の結果の要旨

標的タンパク質と不可逆的な結合を形成するコバレントドラッグは、少量での薬効や長期的な薬効の持続といった優れた特性を有している。一方で、非特異的なタンパク質（オフターゲットタンパク質）との反応に起因する副作用が課題として挙げられ、コバレントドラッグの開発において標的選択性の向上が非常に重要である。これに対して、近年ではコバレントドラッグの反応基を変換することで標的選択性を向上させる戦略が有効であることが示されている。

これに対して、博士論文申請者の徳永啓佑氏は反応性に関わらず反応基ごとに反応しやすいタンパク質が存在することに着目し、コバレントドラッグの標的選択性を決定づける要因は反応基の反応性だけではないと予想した。このような背景のもと、申請者は望んだタンパク質選択性を獲得するためには多様な反応基の中から、目的に適した反応基を選択することが重要だと考え、コバレントドラッグに応用可能な新たな反応基の開発を行った。

第一章では、従来の反応基とは反応特性の異なる分子ひずみを利用したビスクロ[1.1.0]ブタン (BCB) に着目し、コバレントドラッグへの応用を検討した。申請者は初めに様々な BCB 誘導体のチオールに対する反応性を評価し、コバレントドラッグの標的選択性を向上可能な反応性を有する BCB アミドを見出した。続いて反応基として有用であることを示すために、キナーゼ阻害剤への応用を行った。標的としたキナーゼである BTK に対して、既存薬として ibrutinib が上市されている。この ibrutinib の構造を鋳型に BCB を導入したプローブを多数合成し、その生細胞内における標的選択性を評価した。その結果、既存薬である ibrutinib よりも標的選択性の高い BCB プローブを見出すことに成功した。最後に定量的なプロテオミクス解析手法である SILAC 法を用いて、従来の反応基であるアクリルアミドとクロロフルオロアセトアミド基とのタンパク質選択性への影響を比較した。その結果、各反応基に対して高い効率で反応する特有のタンパク質が見出され、反応基が標的選択性に影響を及ぼすことが示された。

第二章では、リジンを狙った可逆的反応基の開発を行った。既存のコバレントドラッグの反応基はシステイン残基を狙ったものが多く、標的可能なタンパク質に限られる。また近年標的選択性を向上可能な反応基として可逆的特性を有する反応基も注目されている。そこで、申請者はリジンを標的可能な可

逆的反応基としてβ-フルオロビニルスルホン（FVS）を新しくデザインし、その反応特性の解明を行った。まず、申請者は様々なFVS誘導体を合成し、そのチオールとリジンに対する反応性を評価した。その結果、少しの構造変化で反応性とリジン選択性の調節が可能であることを明らかにした。次にアミン付加体の安定性の評価を行い水中では継時的に付加体が解消される一方で、疎水環境では付加体が安定であることを明らかにした。

第三章ではFVSの有用性を示すために、ヒートショックプロテイン90（HSP90）を標的とした阻害剤への応用を行った。既存の可逆的なHSP90阻害剤の構造を鋳型にFVSを導入したプローブを合成し、生細胞内でHSP90と共有結合が可能であることを評価した。その結果、低濃度域においてもFVSプローブがHSP90と共有結合を形成したことが確認された。また、このFVSプローブは当初の狙い通り、細胞内においても可逆的な反応特性を示すことが確認され、リジンを標的可能な可逆的反応基として有用であることが期待された。

以上の様に、申請者の徳永啓佑氏は従来の反応基とは異なる独創性の高い新規反応基を見出し、そのコバレントドラッグへの応用も達成した。これらの結果はこれからの高い標的選択性を持つコバレントドラッグの開発において非常に有用な知見になることが期待され、申請者が博士（創薬科学）の学位に値すると認める。