

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19390028

研究課題名（和文） マルチテンプレート手法とドラマタイプ手法に基づく生物応答調節

研究課題名（英文） Biological response modification based on multi-template and dramatype approaches.

研究代表者

橋本 祐一 (HASHIMOTO YUICHI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号：90164798

研究成果の概要（和文）：生物活性物質を効率的に創出するための手法として、マルチテンプレート手法（生理活性物質および、それと相互作用する受容体の3次元的な形状に着目した分子設計法）ならびにドラマタイプ手法（動的に変化するタンパク質の時空間依存的な存在状態に着目する分子設計法）を提案した。本法を確立し、その有用性を実証するために、核内受容体リガンドや、サリドマイド派生化合物群など、様々な生理活性物質を創製した。特徴的な化合物については、生命現象解明のための試薬として販売している。

研究成果の概要（英文）：Two approaches, named multi-template approach (focusing on three dimensional structure of the scaffold and its receptor) and dramatype approach (focusing on conformational change, time-dependent presence, trafficking, and/or stability of the receptor), have been proposed for the methodology to create various categories of biologically active compounds, including nuclear receptor ligands and thalidomide-related derivatives. Some unique active compounds were made commercially available as reagents.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2008年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：医薬分子機能学、生物応答調節剤創製法、生理活性物質

1. 研究開始当初の背景

(1) マルチテンプレート手法：

ヒトのタンパク質は5万～7万種存在するが、それらのドメインの空間形状（フォールド構造）だけに着目すると、わずか1000種ほどの立体構造に限られるとされている。ある一つのフォールド構造に適合する小分

子構造をテンプレートに設定すれば、各フォールド構造が平均的にすべてのタンパク質に分散しているとして、当該テンプレートの構造修飾により50～70種のタンパク質に対して親和性を有する化合物が創生できることになる（図1）。

(2) ドラマタイプ手法：

様々な疾病において、タンパク質のフォールディング異常に起因する、当該タンパク質の安定性・細胞内局在等の異常が、当該病態に決定的に関わっている例が多数報告されてきた。近年、そのようなフォールディング異常を、小分子が修正できる可能性が示唆されてきた。

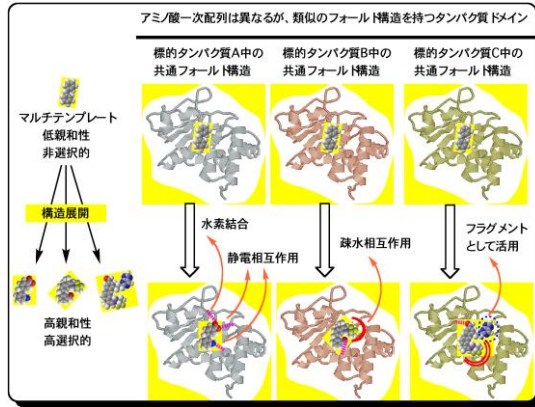


図1. マルチテンプレート手法の概念図

2. 研究の目的

上記(1),(2)の背景のもと、効率的な生理活性物質の創製法としてマルチテンプレート手法（フォールド構造に着目したテンプレートの構造展開法）ならびにドラマタイプ手法（小分子によるコンフォメーション変化の誘導に焦点を当てた分子設計法）（図2）を確立し、その有用性を実験的に実証することを目的とした。

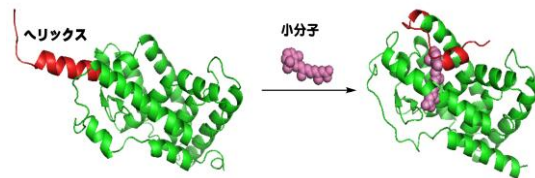


図2. ドラマタイプ手法の一例

3. 研究の方法

マルチテンプレート手法は、標的タンパク質を剛体と見なし、多種多様な標的タンパク質に対して共通に結合しうる小分子骨格をテンプレートとして設定し、当該のテンプレートに構造展開を施すことによって、各々の標的タンパク質に対する特異性を付与する手法である。本法には、標的タンパク質の構造的類似性を起点とする方法と、多岐にわたる生物活性を示す小分子生理活性物質を起点とする方法がある。前者の一例は、ステロイドの人工的代替え骨格たるジフェニルペンタン骨格をマルチテンプレートとする各種核内受容体リガンドならびにステロイド

代謝酵素阻害剤等の創生であり、後者の代表例は、サリドマイドをマルチテンプレートとする各種生理活性物質の創生である

ドラマタイプ手法は、特異的タンパク質の動的な構造変化（フォールディングや他因子との相互作用、エピジェネティックな化学修飾など）を標的にした活性分子の創生法で、例えば核内受容体の部分構造（ヘリックス12）のフォールディングを誘導するアゴニスト、それを阻害するアンタゴニストの創生などが代表例であり（図2）、アゴニスト・アンタゴニストの所望な作り分けによって、同概念の有用性を実証しようとした。加えて、網膜色素変性症に関わる変異ロドプシンの細胞内局在異常の修正、細胞内レチノイン酸結合タンパク質のプロテインノックダウン等への応用研究を展開した。

4. 研究成果

本研究課題の遂行により、

(1) 核内受容体リガンド：

ヒトでは48種存在する核内受容体のうち、20種についてそのリガンドを創製し、さらにそのうちの10種についてはアゴニストとアンタゴニストの作り分けに成功した。そのうちの2化合物については、特徴的な生物活性を有し、企業の協力を仰いで試薬として販売を開始している。

(2) ステロイド代替え骨格としてのジフェニルペンタン骨格：

マルチテンプレートであるジフェニルペンタン骨格の有用性を、13種の核内受容体に対するリガンドの創製、ならびに2種のステロイド認識酵素に対する阻害剤の創製を通じて実証した。

(3) サリドマイド派生化合物群：

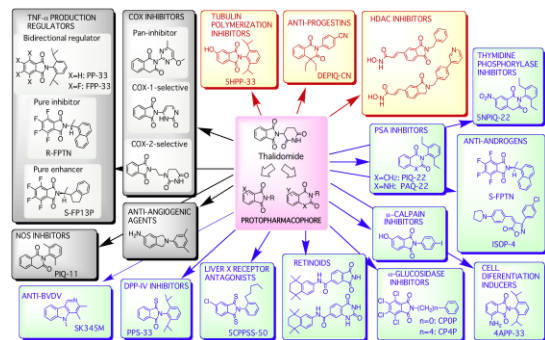


図3. サリドマイドの構造展開と活性拡張の例

サリドマイドをマルチテンプレートに設定した構造展開により、11種の酵素に対する阻害剤、5種の核内受容体に対するリガンド、チュブリン重合阻害剤等の創製に成功し（図

3)、内3化合物については企業の協力を仰いで試薬としての販売を開始している。創製した活性化化合物が直接に結合することが分かっている標的分子だけでも、一酸化窒素合成酵素・シクロオキシゲナーゼ・ジペプチジルペプチダーゼ IV・チュブリン・ヒストン脱アセチル化酵素・チミジンホスホリラーゼ・核内受容体(プロゲステロン受容体・アンドロゲン受容体・レチノイン酸受容体・肝臓 X 受容体)・ α -グルコシダーゼ・ μ -カルパイン・ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ、と多岐にわたり、サリドマイドが生理活性物質創生のために有用なマルチテンプレートであることが実験的に実証できたと考えている。

(4) 小分子によるトラフィック異常の修正：

ある種の網膜色素変性症の原因となる、点突然変異により、正常な膜移行ができない変異型ロドプシンに対して、そのトラフィックを修正しえる小分子化合物群の創製に成功した(図4)。

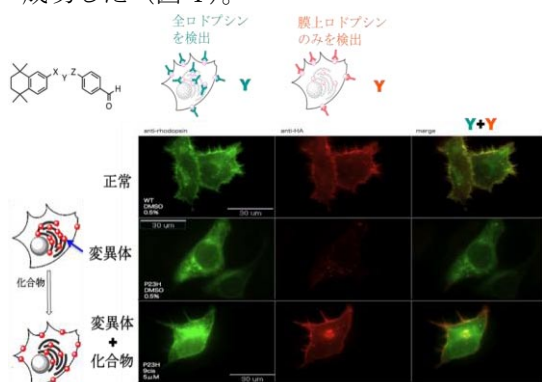


図4. 小分子による変異ロドプシンのトラフィック異常の修正

(5) プロテインノックダウン法：

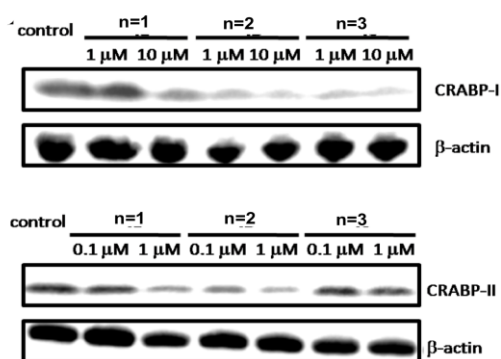
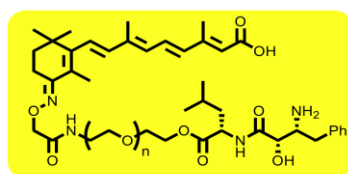


図5. CRABPの消失誘導(プロテインノックダウン)

特定のタンパク質の、生細胞内からの分解排除を誘導すべく、プロテインノックダウン法の開発基礎研究を行った。具体的には、細胞内レチノイン酸結合タンパク質 CRABP を対象に、そのリガンドと、ユビキチンリガーゼ活性イニシエーターであるメチルベスタチンとのハイブリッド分子を、当該タンパク質消失剤として創製した(図5)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計48件)

- ① Aoyama H, Baba M, Hashimoto Y: Nitrogen-containing fused-heteroaromatic compounds as an anti-bovine diarrhea virus (BVDV) agents. *Curr. Bioactive Comp.*, 6(2): 118-128 (2010). 査読有り
- ② Itoh Y, Ishikawa M, Naito M, Hashimoto Y: Protein knockdown using methyl bestatin-ligand hybrid molecule: design and synthesis of inducers of ubiquitination-mediated degradation of cellular retinoic acid-binding proteins. *J. Amer. Chem. Soc.*, 132(16): 5820-5826 (2010). 査読有り
- ③ Mita Y, Dodo K, Noguchi-Yachide T, Miyachi H, Makishima M, Hashimoto Y, Ishikawa M: LXXLL peptide mimetics as inhibitors of the interaction of vitamin D receptor with coactivators. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20(5): 1712-1717 (2010). 査読有り
- ④ Hosoda S, Matsuda D, Tomoda H, Hashimoto Y: Diphenylpentane skeleton as a multi-template for steroid skeleton-recognizing receptors/enzymes. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 9(5): 572-580 (2009). 査読有り
- ⑤ 橋本祐一: マルチテンプレート手法によるサリドマイドの構造展開と活性拡張. *和光純薬時報*, 77(1): 2-5 (2009). 査読無
- ⑥ Hashimoto Y: Thalidomide as a multi-template for development of biologically active compounds. *Arch. Pharm. Life Sci*, 341(9): 536-547 (2008). 査読有り
- ⑦ Sato S, Tetsuhashi M, Sekine K, Miyachi H, Naito M, Hashimoto Y, Aoyama H: Degradation-promoters of cellular inhibitor of apoptosis protein 1 based

on bestatin and actinonin. *Bioorg. Med. Chem.*, 16(8): 4685-4698 (2008). 査読有り

- ⑧ Dodo K, Aoyama H, Noguchi-Yachide T, Makishima M, Miyachi H, Hashimoto Y: Co-existence of alpha-glucosidase-inhibitory activity and liver X receptor-regulatory activities and their separation by structural development. *Bioorg. Med. Chem.*, 16(8): 4272-4285 (2008). 査読有り
- ⑨ Hosoda S, Hashimoto Y: Structural development studies of nuclear receptor ligands. *Pure Appl. Chem.*, 79(4): 615-626 (2007). 査読有り

[学会発表] (計 60 件)

- ① 伊藤幸裕、石川稔、内藤幹彦、橋本祐一: プロテインノックダウン法の開発～低分子 CRABP 分解誘導剤の創製～. 第 8 回次世代の担う有機化学シンポジウム (東京)、2010.5.13-14.
- ② 橋本祐一: シーズ創製のためのマルチテンプレート法とドラマタイプ法. 日本薬学会第 130 年会 (岡山)、2010. 3. 28-30.
- ③ 大金賢司、閼闓孝介、橋本祐一: 変異型ロドプシンのフォールディングを促進するロドプシンリガンドの創製研究～網膜色素変性症への応用を目指して～. 日本薬学会第 130 年会 (岡山)、2010. 3. 28-30.

[図書] (計 2 件)

- ① Hashimoto Y: Interaction of biological response modifier with proteins. In "Protein Targeting with Small Molecules: Chemical Biology Techniques and Applications", ed. By Osada H, p149-168, John Wiley & Sons, New Jersey 2009.

[産業財産権]

○出願状況 (計 9 件)

- ①名称: C 型肝炎治療剤
発明者: 馬場昌範、橋本祐一、青山洋史、中村政彦、浦田泰生
権利者: 国立大学法人鹿児島大学
種類: 特許
番号: 特願 2010-020502
出願年月日: 2010. 2. 1
国内外の別: 国内
- ②名称: ベンズアルデヒド化合物
発明者: 大金賢司、橋本祐一

権利者: 国立大学法人東京大学
種類: 特許
番号: 特願 2009-148965
出願年月日: 2009. 6. 23
国内外の別: 国内

③名称: 新規置換ビフェニルカルボン酸誘導体
発明者: 宮地弘幸、橋本祐一、春日淳一
権利者: 国立大学法人岡山大学
種類: 特許
番号: 特願 2009-132055
出願年月日: 2009. 6. 1
国内外の別: 国内

④名称: ジフェニルメタン誘導体を有効成分とする抗ウイルス剤
発明者: 馬場昌範、岡本実佳、後藤志典、モハメド タハ、アーメド サリム、橋本祐一、青山洋史、細田信之介
権利者: 国立大学法人鹿児島大学
種類: 特許
番号: 特願 209-061577
出願年月日: 2009. 3. 13
国内外の別: 国内

⑤名称: 三環性化合物
発明者: 宮地弘幸、橋本祐一、青山惇
権利者: 国立大学法人東京大学
種類: 特許
番号: 特願 2008-50690
出願年月日: 2008. 2. 29
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等
<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/IMCB-8ken-HP/Index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 祐一 (HASHIMOTO YUICHI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・教授
研究者番号: 90164798

(2) 研究分担者

小林 久芳 (KOBAYASHI HISAYOSHI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号: 80225531
(H19→H20: 連携研究者)

野口 友美 (NOGUCHI TOMOMI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・技術職員
研究者番号: 20401284
(H19→H20: 連携研究者)

青山 洋史 (AOYAMA HIROSHI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：4037699
(H19→H20：連携研究者)