

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390032

研究課題名（和文） 創薬を目指したコラーゲンのケミカルバイオロジー

研究課題名（英文） Chemical biology of collagen toward drug development

研究代表者

小出 隆規（KOIDE TAKAKI）

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：70322253

研究代表者の専門分野：蛋白質化学・生化学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：医薬分子設計、ペプチド、コラーゲン、スクリーニング、タンパク質

1. 研究計画の概要

本研究は、コラーゲン結合タンパク質を分子標的とする萌芽的な創薬研究である。コラーゲン結合タンパク質の中には、臓器の線維化に関わる heat-shock protein 47(HSP47)、血液凝固に関わる von Willebrand 因子(VWF)や血小板 glycoprotein VI (GPVI) などのようにコラーゲンとの相互作用が病態形成に直結するようなものも多い。

本研究では、ペプチド・タンパク質化学に基礎を置く独自の方法論を利用して、これらタンパク質とコラーゲンとの結合を、アミノ酸残基レベルで詳細に検討することにより、タンパク質・コラーゲン相互作用インターフェイスに関する構造情報を得、創薬リードの創出につなげる。

また、コラーゲン・タンパク質相互作用の阻害剤を探索するために独自に開発した in vitro high-throughput screening 系を確立する。それをもちいて複数のコラーゲン結合タンパク質に対する低分子量阻害剤を取得し、創薬リード化合物として提供する。

2. 研究の進捗状況

(1) これまでに、血管新生阻害/神経栄養因子としてはたらく色素上皮由来因子(PEDF)が結合するコラーゲン3重らせん上のアミノ酸配列モチーフを決定した。同定した PEDF 結合配列は、ヘパリン結合性を併せ持っていた。このことは、他の実験結果とあわせて、PEDF が発揮する血管新生阻害活性へのヘパリン硫酸プロテオグリカンの関与を強く示唆するものとなった。

(2) 線維化を促進するシャペロンである HSP47 が認識するコラーゲン3重らせんペ

プチドについて徹底した構造活性相関研究を行った。この結果により HSP47・コラーゲン結合インターフェイスの構造が推定された。

(3) タンパク質 - コラーゲン相互作用阻害剤を取得するための high-throughput screening 系の構築とバリデーションをおこなった。384-well プレートを用いたスクリーニング系は、薬物探索に十分実用可能な精度を持つことがわかり、自動化の可能性も示すことができた。このスクリーニング系は、標的タンパク質の個別の活性に依存しないため、複数の標的タンパク質に対する阻害剤を共通のスクリーニングフォーマットで実施できるという優れた性質をもつ。

(4) 上記スクリーニング系を用いて、コラーゲン線維化阻害剤、HSP47 阻害剤、PEDF 阻害剤を取得するために市販合成低分子ライブラリーからのランダムスクリーニングを実施した。それぞれのスクリーニングにおいて、複数のヒット候補化合物を取得した。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

(理由)

本研究の鍵であった high-throughput screening 系を確立することができ、実際のランダムスクリーニングでヒット候補化合物が複数得られた。また、HSP47 および PEDF が認識するコラーゲン上のモチーフが合成ペプチドをもちいたアプローチにより明らかになった。これにより得られた構造情報は、これらタンパク質に対する阻害剤を得るための、フォーカスド化合物ライブラリ

ーを構築する上で有用である。

4. 今後の研究の推進方策

計画の通りに推進する。とくに、これまでのスクリーニングにより得られたヒット候補化合物の効力評価、特異性評価を優先し、一化合物であっても非常に優れた性質を示すものと判断された場合には、その化合物の薬効評価を中心とした研究に注力する。

5. 代表的な研究成果

(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5件)

小出隆規、コラーゲン様三重らせんペプチドを利用した生化学研究、生化学, 82, 印刷中 (2010) 査読有

C. M. Yamazaki, Y. Kadoya, K. Hozumi, H. Okano-Kosugi, S. Asada, K. Kitagawa, M. Nomizu, T. Koide, A collagen-like triple helical supramolecule that evokes integrin-dependent cell response, *Biomaterials* 31, 1925-1934 (2010) 査読有

H. Okano-Kosugi, O. Matsushita, S. Asada, A. B. Herr, K. Kitagawa, T. Koide, Development of a high-throughput screening system for the compounds that inhibit collagen-protein interactions, *Anal. Biochem.* 394, 125-131 (2009) 査読有

S. T. L. Philominathan, T. Koide, K. Hamada, H. Yasui, S. Seifert, O. Matsushita, J. Sakon, Unidirectional binding of clostridial collagenase to triple helical substrates, *J. Biol. Chem.* 284, 10868-10876 (2009) 査読有

C. M. Yamazaki, S. Asada, K. Kitagawa, T. Koide, Artificial collagen gels via self-assembly of de novo designed peptides, *Biopolymers(Peptide Science)*, 90, 816-823 (2008) 査読有

[学会発表](計5件)

小出隆規ら、色素上皮由来因子(PEDF)の配列特異的なコラーゲン認識とその意義、日本薬学会第130年会、2010年3月29日、岡山

関谷敦志、小出隆規ら、色素上皮由来因子(PEDF)による特異的なコラーゲン認識、第82回に本生化学会大会、2009年10月22日、神戸

H. Kosugi, S. Asada, K. Kitagawa, T. Koide et al., A 384-plate screening of the compounds that inhibit collagen-protein interactions, 8th Pan-Pacific Connective

Tissue Societies Symposium, 2009年6月6日、横須賀

C. M. Yamazaki, S. Asada, K. Kitagawa, T. Koide, Totally synthetic collagen-like gels by intermolecular folding of designed peptides, 30th European Peptide Symposium, 2008年9月4日、ヘルシンキ

小杉日登美、浅田真一、北川幸己、小出隆規、コラーゲン3重らせん上に存在するタンパク質結合配列の探索、第55回マトリックス研究会大会、2008年5月30日、東京

[その他]

ホームページ

<http://www.chem.waseda.ac.jp/koide/>