

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293216

研究課題名(和文) アディポネクチン受容体を標的とした構造ベース創薬に向けた基盤技術の創出と確立

研究課題名(英文) Building and establishing platform technologies for Structure Based Drug Design targeting AdipoR

研究代表者

岩部 美紀 (Iwabu, Miki)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：70392529

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、肥満に伴って、脂肪細胞から分泌される生理活性物質アディポネクチンが低下し、全身でのアディポネクチン/その受容体AdipoRの作用低下が、生活習慣病激増の主因であることを明らかにしてきた。我々は、世界初・日本発のAdipoR活性化薬のシーズとなる低分子化合物の取得に成功した。本課題では、最難関であったAdipoRの立体構造解析に成功した。AdipoR活性化低分子化合物のシーズ化合物を構造展開し、細胞及び個体レベルでの抗糖尿病作用を検討し、既存のAdipoR活性化低分子化合物より、高活性かつ特異性が高く、安全性の高い開発候補品を取得し、最適化を行った。今後の新規糖尿病治療薬の開発に繋げる。

研究成果の概要(英文)：We have so far clarified that adiponectin, an adipocyte-secreted physiologically active substance, is decreased with the onset of obesity and that lifestyle-related diseases are primarily accounted for by the systemically decreased action of adiponectin/adiponectin receptors (AdipoRs). We were the first in the world to succeed in identifying small-molecule compounds that serve as seed compounds for candidate AdipoR-activating drugs. In the process, we have also reported the crystal structures of AdipoRs, which allowed the seed compounds to be structurally developed, examined for their anti-diabetic properties at the cellular and organism levels, and optimized as candidate compounds for clinical development, with their activity, specificity and safety highly enhanced over those of existing small-molecule AdipoR-activating compounds. It is hoped that these milestones will lead to the development of novel anti-diabetic drugs.

研究分野：生化学

キーワード：糖尿病 薬理学 トランスレーショナルリサーチ

## 1. 研究開始当初の背景

我が国の死因の上位を占める癌、心血管疾患（心筋梗塞、脳梗塞等）の主要な原因はメタボリックシンドローム・糖尿病と考えられる。これらの生活習慣病は我が国、並びに世界において増え続けていて抑制出来ていないことより、その原因を解明して予防法・治療法を開発することは、世界的・国民的な課題の解決に貢献する挑戦的な取り組みと言える。また、運動不足がこれら生活習慣病の原因になり得ること、一方でカロリー制限や運動がこれらの良い予防法・治療法となり、延いては最善の健康長寿法になることが良く知られている。そのため、生活習慣病に対する根本的な予防法・治療法の開発が、動向として世界中で渴望されているが、国内・国外の研究において、これまで成功例は皆無であった。

これまでに、当研究室では、肥満に伴って脂肪細胞が肥大化すると脂肪細胞から分泌される生理活性物質アディポカインの中で、アディポネクチンが低下することが、メタボリックシンドローム・糖尿病激増の主因になっていること、アディポネクチンを補充することがこれらの治療法になり得ることを研究成果として示してきた（*Nat. Med.* 7: 941, 2001; *Nat. Med.* 8: 1288, 2002）。さらに、培養細胞においてこのアディポネクチンの結合・作用に必須の受容体としてアディポネクチン受容体（AdipoR1・AdipoR2）を世界で初めて同定してきた（*Nature* 423: 762, 2003）。これら一連の研究に引き続き、AdipoR1・AdipoR2 が個体レベルにおいてアディポネクチンの結合・作用に必須の受容体であることを証明し、インスリン感受性、糖・脂質・エネルギー代謝、炎症や酸化ストレスの制御において生理的に重要な役割を果たすことを研究成果として示してきた（*Nat. Med.* 13: 332, 2007）。さらに、アディポネクチン・AdipoR 経路は、細胞内代謝作用を増強するのみならず、同時に細胞内ストレス消去系を拡充させることによって、過栄養による適応の破綻が起こらないようにしている役割・意義を担っていることを co-first author として、明らかにしている（*Nature* 464: 1313, 2010）。また、アディポネクチン・AdipoR1 経路が運動とよく似た効果を発揮することも明らかにした（*Nature* 464: 1313, 2010）。

これら研究成果を基盤として、ごく最近、独自の AdipoR 活性化薬スクリーニング法を駆使し、遂に世界初・日本発の AdipoR 活性化低分子化合物の取得に成功した（*Nature* 503: 493, 2013）。

現在取得している AdipoR 活性化能を有する低分子化合物（分子量約 400）は、*in*

*vitro* においては、AdipoR と結合し、細胞レベルで、ミトコンドリアの量を増加させる効果を確認している。さらに非常に重要なことは、マウスへの経口投与によって、インスリン抵抗性の改善や筋持久力アップなどの効果が AdipoR を介して発揮することが示されている。さらに驚くべきことに AdipoR 欠損マウスは、短命であることが明らかとなったが、非常に重要なポイントは、この AdipoR 活性化低分子化合物は生活習慣病モデルマウスの短くなった寿命を延長した（*Nature* 503: 493, 2013）。

この化合物をシーズとして、ヒトへ最適化することは、極めて重要な課題である。その目的のためのツールとしても AdipoR の立体構造情報は非常に重要であり、世界中の各研究機関により立体構造の解明が急がれていたがこれまで明らかになっていなかった。その背景としては、この AdipoR が 7 回膜貫通型受容体でありながら G タンパク質共役受容体（GPCR）とは逆の膜トポロジーを持つため結晶化が極めて難しいことが挙げられる。そのため、我々はこれまでの膜タンパク質生産の要素技術を駆使し、安定性の高い N 末端欠損変異体の調製法を確立し、さらに AdipoR に対する立体構造認識抗体を取得し、遂に AdipoR の立体構造を決定した（未発表）。

## 2. 研究の目的

我々は、肥満に伴って、脂肪細胞から分泌される生理活性物質アディポネクチン（Ad）が低下し、全身での Ad / アディポネクチン受容体（AdipoR）作用低下が、メタボリックシンドローム・2 型糖尿病激増の主因になっていることを明らかにしてきた。これらの結果を踏まえ、AdipoR をターゲットとした新規糖尿病治療薬の登場が期待されていたが、ごく最近、世界初・日本発の AdipoR 活性化薬のシーズとなる低分子化合物の取得に成功した（*Nature* 503: 493, 2013）。同時に最難関であった AdipoR の立体構造解析にも成功している。本研究課題では、現在取得している AdipoR 活性化低分子化合物と AdipoR との立体構造解析を行い、得られた情報に基づいて、ケミカルバイオロジー、計算化学的手法などを駆使し、AdipoR 機能を制御できる作用部位へフィットできるよう薬剤候補化合物を設計・合成し、最適化していく。最終的に臨床試験にステップアップさせる化合物取得を目指し新規糖尿病治療薬の開発に繋げる。具体的には、以下の 3 つの研究項目に沿って研究を推進する。

(1) AdipoR と低分子化合物との立体構造解析・インシリコスクリーニング・化合物の構造展開

(2) ヒト型 AdipoR マウスおよび各組織特異的 AdipoR 欠損マウスを用いた化合物の最

## 適化

(3) 安全性試験、薬理試験による臨床応用への最終確認

### 3. 研究の方法

(1) AdipoR と低分子化合物 (1st リード化合物) 複合体の X 線立体構造解析およびインシリコスクリーニング等を用いた構造展開を行う。さらに、AdipoR 欠損マウスを用いた AdipoR への特異性の評価さらに安全性試験 (急性毒性試験・反復投与毒性試験) を行いその結果をインシリコおよび薬物設計に反映させる。

(2) 初年度以降得られる 2nd リード化合物に関して、ヒト型 AdipoR マウスを用いてヒト AdipoR への特異性などを評価する。さらに、取得した有用な低分子化合物 (2nd リード化合物) について、安全性試験 (急性毒性試験・反復投与毒性試験) を行う。最終的に臨床試験にステップアップさせうる化合物の取得を目指し、新規糖尿病治療薬の開発に繋げる。

### 4. 研究成果

(1) AdipoR と低分子化合物との立体構造解析・インシリコスクリーニング・化合物の構造展開: AdipoR の N 末端の変異体と AdipoR の立体構造を認識する抗体を取得し、AdipoR の結晶化に成功した (*J. Struct. Funct. Genomics*. 16, 11-23, 2015)。得られた結晶から、AdipoR1 及び AdipoR2 の結晶構造を決定した (*Nature* 520, 312-316, 2015)。さらに、取得済みであった AdipoR 活性化低分子化合物 (1st リード化合物) から、構造展開、スクリーニングを行い、AdipoR 活性化低分子化合物 (2nd リード化合物) を取得した。さらに、AdipoR と AdipoR 活性化低分子化合物 (2nd リード化合物) との複合体の X 線立体構造解析を進める中で、新規活性化メカニズムを明らかにし (論文投稿中) 2nd リード化合物について、構造展開を行った。

(2) ヒト型 AdipoR マウスおよび各組織特異的 AdipoR 欠損マウスを用いた化合物の最適化: ヒト型 AdipoR マウスを用い、これまでに取得した有用な 1st リード化合物及び、2nd リード化合物について、その効果を検討した結果、AdipoR より高活性、特異性の高い化合物が得られた (論文投稿準備中)。

(3) 安全性試験、薬理試験による臨床応用への最終確認: 1st リード化合物及び 2nd リード化合物について、血中及び、各種臓器の濃度測定系を確立した。さらに、安全性試験 (急性毒性試験・反復投与毒性試験) を行い、開発可能性について検討した結果、開発候補品となりうる安全性の高い化合物が得られた。

### 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 5 件)

Iwabu M, Okada-Iwabu M, Yamauchi T and Kadowaki T. Adiponectin/adiponectin receptor in disease and aging. *npj Aging and Mechanisms of Disease* 1, 15013, 2015

DOI:10.1038/npjamd.2015.13

Okada-Iwabu M, Iwabu M, Ueki K, Yamauchi T and Kadowaki T. Perspective of Small-Molecule AdipoR Agonist for Type 2 Diabetes and Short Life in Obesity. *Diabetes Metab. J.* 39, 363-372, 2015

DOI:10.4093/dmj.2015.39.5.363

Shiomi Y, Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Nakayama R, Orikawa Y, Yoshioka Y, Tanaka K, Ueki K and Kadowaki T. A Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) Agonist and PPAR Antagonist, Z-551, Ameliorates High-fat Diet-induced Obesity and Metabolic Disorders in Mice. *J. Biol. Chem.* 290, 14567-14581, 2015

DOI:10.1074/jbc.M114.622191

Tanabe H, Fujii Y, Okada-Iwabu M\*, Iwabu M\*, Nakamura Y\*, Hosaka T, Motoyama K, Ikeda M, Wakiyama M, Terada T, Ohsawa N, Hato M, Ogasawara S, Hino T, Murata T, Iwata S, Hirata K, Kawano Y, Yamamoto M, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Yamauchi T, Kadowaki T and Yokoyama S. Crystal structures of the human adiponectin receptors. *Nature* 520, 312-316, 2015 (\*These authors contributed equally to this work.)

DOI:10.1038/nature14301

Tanabe H, Motoyama K, Ikeda M, Wakiyama M, Terada T, Ohsawa N, Hosaka T, Hato M, Fujii Y, Nakamura Y, Ogasawara S, Hino T, Murata T, Iwata S, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Hirata K, Kawano Y, Yamamoto M, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Yamauchi T, Kadowaki T and Yokoyama S. Expression, purification, crystallization, and preliminary X-ray crystallographic studies of the human adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2. *J. Struct. Funct. Genomics*. 16, 11-23, 2015

DOI:10.1007/s10969-014-9192-z.

## 〔学会発表〕(計 28 件)

1. 岩部 美紀, 山内 敏正, 岩部 真人, 門脇 孝: 第 10 回 システム疾患生命科学による先端医療技術開発シンポジウム「アディポネクチン受容体の抗体創薬に向けた検討と解析」(2017 年 3 月 11 日 東京大学武田先端知ビル (東京都・

- 文京区))
2. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:東大病院先端医療シーズ開発フォーラム 2017「大学発の新規糖尿病治療薬開発におけるトランスレーショナルリサーチの実現を目指して」(2017年2月2日 東京大学伊藤国際学術研究センター (東京都・文京区))
  3. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第37回 日本肥満学会「アディポネクチン受容体アゴニストの肥満症治療への応用に向けた挑戦」(2016年10月7日 東京ファッションタウンビル(東京都・江東区))
  4. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第21回 アディポサイエンスシンポジウム「アディポネクチン受容体の構造と機能解明」(2016年8月20日 千里ライフサイエンスセンター(大阪府・豊中市))
  5. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第59回 日本糖尿病学会年次学術集会「アディポネクチン受容体の立体構造とアゴニストの最適化に向けた検討と解析」(2016年5月21日 国立京都国際会館(京都府・京都市))
  6. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第89回 日本内分泌学会学術総会「アディポネクチン受容体の立体構造とアゴニストの最適化に向けた検討と解析」(2016年4月21日 国立京都国際会館(京都府・京都市))
  7. 岩部 美紀:国立研究開発法人日本医療研究開発機構/革新的医療技術創出拠点プロジェクト平成27年度成果報告会「生活習慣病の鍵分子アディポネクチン受容体/アディポネクチンシグナル活性化薬の創出」(2016年3月3日 虎ノ門ヒルズ(東京都・港区))
  8. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第9回システム疾患生命科学による先端医療技術開発シンポジウム「アディポネクチン受容体の抗体創薬に向けた検討と解析」(2016年2月12日 東京大学山上会館(東京都・文京区))
  9. 岩部 美紀:東大病院先端医療シーズ開発フォーラム 2016(講演)「大学発の新規糖尿病治療薬開発におけるトランスレーショナルリサーチの実現に向けて」(2016年2月2日 東京大学伊藤国際学術研究センター (東京都・文京区))
  10. 岩部 美紀:第4回 IRG Meeting(講演)「Crystal structure of the human adiponectin receptors」(2016年1月9日 品川プリンスホテル(東京都・港区))
  11. MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TAKASHI KADOWAKI: 2015 Keystone Symposia Conference T2: Diabetes: New Insights into Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies「Crystal structures of the human adiponectin receptors」(2015年10月13日 Kyoto (JAPAN))
  12. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第36回 日本肥満学会「アディポネクチン受容体の立体構造とアゴニストの最適化に向けた検討」(2015年10月3日 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市))
  13. MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TAKASHI KADOWAKI: 第20回 アディポサイエンスシンポジウム(講演)「Crystal structure of the human adiponectin receptors」(2015年8月22日 千里ライフサイエンスセンター(大阪府・豊中市))
  14. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第58回 日本糖尿病学会年次学術集会「健康長寿を目指した糖尿病治療薬開発に向けたアディポネクチン受容体アゴニストの創製」(2015年5月21日 グランプラス セント・バルンタイン(山口県・下関市))
  15. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第88回 日本内分分泌学会学術総会(講演(招待)・シンポジウム)「アディポネクチンを標的とした糖尿病・糖尿病合併症の治療」(2015年4月25日 ホテルニューオータニ(東京都・千代田区))
  16. 岩部 美紀:文部科学省・厚生労働省革新的医療技術創出拠点プロジェクト平成26年度成果報告会「生活習慣病の鍵分子アディポネクチン受容体/アディポネクチンシグナル活性化薬の創出」(2015年3月6日東京コンベンションホール(東京都・中央区))
  17. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第8回システム疾患生命科学による先端医療技術開発シンポジウム「アディポネクチン受容体の抗体創薬に向けた検討と解析」(2015年2月27日 東京大学本郷キャンパス山上会館(東京都・文京区))
  18. 岩部 美紀:東大病院先端医療シーズ開発フォーラム 2015(講演)「健康長寿を目指した大学発の新規糖尿病治療薬開発の試み」(2015年1月22日 東京大学伊藤国際学術研究センター(東京都・文京区))
  19. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第35回 日本肥満学会「アディポネクチン受容体アゴニストの抗糖尿病作用と寿命延長効果」(2014年10月25日 シーガイアコンベンションセンター(宮城県・宮崎市))
  20. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第29回 日本糖尿病合併症学会「アディポネクチン受容体アゴニス

- トの抗糖尿病作用と寿命延長効果」  
(2014年10月3日 都市センターホテル(東京都・千代田区))
21. 岩部 美紀:平成26年度 自然科学研究機構 生理学研究所研究会 臓器連関による生体防御システムとその変容の仕組み(講演)「代謝関連臓器をターゲットにした抗糖尿病治療薬としてのアディポネクチン受容体アゴニストの開発の試み」(2014年9月28日 大学共同利用機関法人自然科学研究機構生理学研究所(愛知県・岡崎市))
  22. 岩部 美紀:第14回 抗加齢医学の実際2014(講演・シンポジウム)「健康長寿を目指した新規糖尿病治療薬開発の試み」(2014年9月15日 時事通信ホール(東京都・中央区))
  23. MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TAKASHI KADOWAKI: 9th Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes and Atherosclerosis Congress (MSDA2014)「A small-molecule AdipoR agonist ameliorates type 2 diabetes and prolongs the shortened lifespan」(2014年9月13日 Kyoto (JAPAN))
  24. MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TAKASHI KADOWAKI: 第19回 アディポサイエンスシンポジウム「A small-molecule AdipoR agonist ameliorates type 2 diabetes and prolongs the shortened lifespan」(2014年8月23日 千里ライフサイエンスセンター(大阪府・豊中市))
  25. MIKI OKADA-IWABU, TOSHIMASA YAMAUCHI, MASATO IWABU, TAKASHI KADOWAKI: American Diabetes Association, 74th Scientific Sessions「A small-molecule AdipoR agonist ameliorates type 2 diabetes and prolongs the shortened lifespan」(2014年6月15日 San Francisco (USA))
  26. 岩部 美紀:2014年度臨床者育成プログラム Metabolism Research Course(講演)「大学の研究から大学発の創薬への挑戦-若手の皆さんのこれからの楽しい研究生活に向けて-」(2014年6月6日 東京大学医学部附属病院(東京都・文京区))
  27. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第57回 日本糖尿病学会年次学術集会「アディポネクチン受容体アゴニストの抗糖尿病作用と寿命延長効果」(2014年5月24日 ホテルNCB(大阪府・大阪市))
  28. 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:第87回 日本内分泌学会学術総会「アディポネクチン受容体をターゲットにした糖尿病治療薬開発の試み」(2014年4月24日 福岡国際会議場(福岡県・福岡市))

〔図書〕(計9件)

- 岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝:【肥満糖尿病克服への新たな挑戦】アディポロンと健康長寿」糖尿病(一般社団法人日本糖尿病学会)59巻11号,736-739(全50頁),2016
- 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:「アディポネクチン受容体の構造」内分泌・糖尿病・代謝内科(科学評論社)43巻2号,170-174(全90頁),2016
- 岩部(岡田)美紀:【若手研究者ドキュメンタリー Rising Stars 輝ける研究者たち 第22回】Diabetes Strategy(先端医学社)6巻3号,37-46(全48頁),2016
- 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:【話題】「アディポロン」内分泌・糖尿病・代謝内科(科学評論社)42巻4号,298-303(全82頁),2016
- 岩部(岡田)美紀:【トップランナーに聞く】第61回最終回「大学発の創薬の実現を目指して」最新医学(最新医学社)71巻4号,857-861(全166頁),2016
- 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:【新時代の臨床糖尿病学(上)-より良い血糖管理をめざして-】糖尿病治療 薬物療法 新規糖尿病治療薬アディポネクチン受容体アゴニスト(アディポロン)日本臨床(日本臨床社)607-613(全671頁),2016
- 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:【「解明」から「制御」へ 肥満症のメディカルサイエンス】(第1章)エネルギー代謝の制御機構 アディポネクチンの生理機能 肥満・2型糖尿病治療に向けて 実験医学(羊土社)4巻2号,221-227(全212頁),2016
- 岩部 美紀、山内 敏正、岩部 真人、門脇 孝:【臓器の記憶と血管代謝ニッチ】「アディポネクチン受容体機能低下に伴う臓器記憶の変容」血管医学(メディカルレビュー社)16巻4号,345-352(全118頁),2015
- 岩部 美紀、山内 敏正、門脇 孝:【糖尿病治療の進歩】「AdipoRを標的とした健康長寿薬開発への挑戦」細胞(ニューサイエンス社)46巻12号,585-589(全52頁),2014

〔その他〕  
新聞報道等

- ・ NHK「ためしてガッテン」長寿ホルモン大放出! 動脈硬化メタボ糖尿病一挙解決SP」放送日:2015年10月28日午後8時
- ・ 薬事日報 HEADLINE NEWS「【理研・東大グループ】アディポネクチン受容体の立

- 体構造を解明-メタボ・糖尿病治療薬開発へ前進」2015年4月14日
- ・ 日経バイオテク「理研と東大、アディポネクチン受容体の立体構造解明をNature誌で発表、9年前から共同研究」2015年4月9日
  - ・ マイナビニュース「理研と東大、メタボ/糖尿病治療のカギとなる受容体の立体構造を解明」2015年4月9日
  - ・ 時事通信社「立体構造解明、糖尿病新薬も＝善玉ホルモンの受容体-理研・東大」2015年4月9日
  - ・ 日経産業新聞「タンパク質の構造解析 東大と理研 生活習慣病予防薬に道」2015年4月9日

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

岩部 美紀 (IWABU, Miki)  
東京大学・医学部附属病院・特任講師  
研究者番号：70392529

### (3)連携研究者

岩部 真人 (IWABU, Masato)  
東京大学・医学部附属病院・特任准教授  
研究者番号：30557236

山内 敏正 (YAMAUCHI, Toshimasa)  
東京大学・医学部附属病院・准教授  
研究者番号：40372370

門脇 孝 (KADOWAKI, Takashi)  
東京大学・医学部附属病院・教授  
研究者番号：30185889

横山 茂之 (TOKOYAMA, Shigeyuki)  
独立行政法人理化学研究所・横山構造生物学研究室・上席研究員  
研究者番号：00159229