

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18898

研究課題名(和文) 炎症収束物質レゾルビンの安定等価体を活用する標的タンパク質の探索

研究課題名(英文) Search for target proteins utilizing the stable equivalents of resolvins, pro-resolving lipid mediators

研究代表者

福田 隼 (FUKUDA, Hayato)

北海道大学・薬学研究院・助教

研究者番号：30434450

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：レゾルビンE2の水酸基の重要性を確認するためにデオキシレゾルビンE2を合成することとし、レゾルビンE2の合成方法を活用して5-デオキシレゾルビンE2および18-デオキシレゾルビンE2、さらに5,18-ジデオキシレゾルビンE2の効率的合成に成功した。これら合成した化合物を抗炎症活性試験で評価したところ、いずれもレゾルビンE2と同等の生物活性であることが分かった。すなわち、レゾルビンE2の5位あるいは18位からリンカーが伸長できることが示唆された。

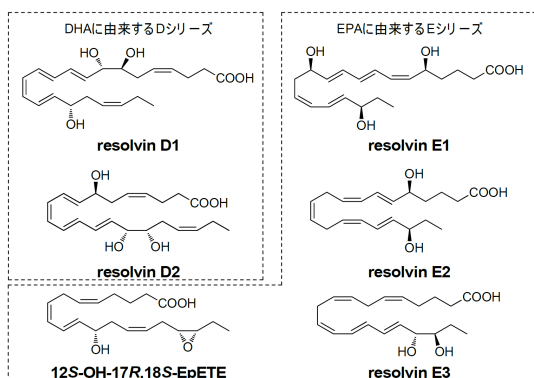
研究成果の概要(英文)：It was decided to synthesize deoxyresolvine E2 in order to confirm the importance of the hydroxyl group of resolvins E2, then 5-deoxyresolvins E2, 18-deoxyresolvins E2, and 5,18-dideoxyresolvins E2 were efficiently synthesized by exploiting the synthetic method of resolvins E2. These synthesized compounds were evaluated by an anti-inflammatory activity test, so it was found that they all had the biological activity equivalent to that of resolvins E2. Therefore, it was suggested that the linker could extend from C-5 or C-18 of resolvins E2.

研究分野：創薬化学

キーワード：レゾルビン
レゾルビンE2 安定等価体 標的タンパク質 炎症収束 シクロプロパン デオキシレゾルビン

1. 研究開始当初の背景

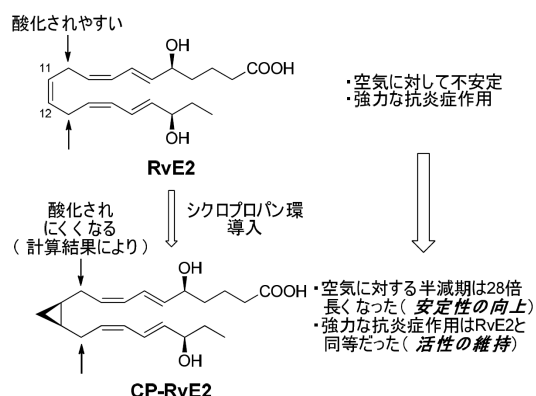
レゾルピン類は抗炎症活性を有する不飽和脂肪酸代謝物で炎症収束を促進する新しいタイプの抗炎症性脂質メディエーターである(下図)。プロスタグランジン類やロイコトリエン類は-6系のアラキドン酸から産生されるのに対して、レゾルピン類は-3系のドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)から産生される。本化合物群は様々な抗炎症活性を有することが報告されており(*Nat. Rev. Immunol.* 2008, 8, 349.), それらの活性は他の抗炎症剤に比べて極めて強力(nM~pM)であり、新たな抗炎症剤として期待されている。一部のレゾルピン類が結合する受容体候補は提示されているが(*Cell Metab.* 2014, 19, 21.), ほとんどの本化合物群の標的タンパク質は不明のままである。レゾルピン類は炎症収束に重要な役割を果たしているが(*Chem. Rev.* 2011, 111, 5922.), その炎症収束の詳細な作用機序はいまだに明らかにされておらず、レゾルピン類の創薬化学研究はほとんど進んでいない。創薬化学研究の対象として有望であることから、レゾルピン類の標的タンパク質の同定、作用機序の解明は重要な課題である。



国内では例えば、有田誠博士(理化学研究所)はこれまでに resolvin E1 が炎症を収束させることを発見しており(*Nature* 2007, 447, 869.), 最近、新たな脂質メディエーターとして 12S-OH-17R,18S-EpETE (上図)を発見した(*FASEB J.* 2014, 28, 586.). 国外では例えば、レゾルピン類の発見者である Serhan 教授(ハーバード大学)はレゾルピン類やその類縁体の同定、構造決定、薬理学研究を精力的に行っている(*Chem. Rev.* 2011, 111, 5922.). 近年、世界的にレゾルピン類に関する研究は増加傾向にあり、本化合物群が非常に注目されている。しかし、本研究のような創薬化学的観点からの研究はほとんどない。

レゾルピン類には多価不飽和構造(分子内に多くの二重結合を有する)に起因する安定性に問題があることから、医薬品やバイオツールとしての利用は制限される。その問題を解決するために、申請者は二重結合を代替す

るユニットをレゾルピン類に導入し、構造的安定性の付与を目指し、研究を行ってきた。すなわち、resolvin E2 (RvE2)の11位二重結合を二重結合と生物学的等価なシクロプロパン環に置換することで、生物活性を維持しつつ、酸化されやすい1,4-ジエン構造を解消することとした。まず、RvE2 およびシクロプロパン環を導入した CP-resolvin E2 (CP-RvE2)を合成した。続いて、これらの空気に対する安定性を比較したところ、CP-RvE2 は RvE2 よりも半減期が28倍以上長くなり、その安定性はかなり向上した。また、生物活性の評価として、マクロファージの食作用を評価したところ、RvE2 と CP-RvE2 の活性は同等であったことから RvE2 にシクロプロパン環を導入しても生物活性は維持されることが分かった。しかし、生物活性試験を *in vitro* で行うと抗炎症作用が安定して確認することができないことから、活性本体が RvE2 なのか、提示されている標的タンパク質が正しいのかを確認する必要があった。そこで、申請者はレゾルピン類の標的タンパク質を同定するためのプローブを作製し、その後、標的タンパク質を単離・同定し、作用機序を解明することとした。



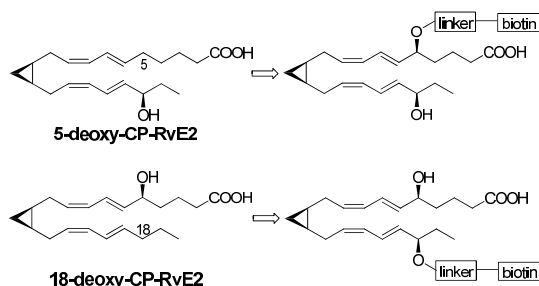
2. 研究の目的

レゾルピン類は極めて強力な抗炎症性の生体内代謝物であり、炎症調節機能を担うことから、過剰な炎症反応が原因である難治性疾患(自己免疫疾患など)に対する新しい創薬のリード化合物として期待されている。レゾルピン類についての研究は年々増加傾向にあるものの創薬研究はほとんどされていない。そこで申請者は創薬研究に向けて多価不飽和脂肪酸の分子構造に着目して化学的プローブを用いたレゾルピン類の標的タンパク質の探索を行うこととした。

3. 研究の方法

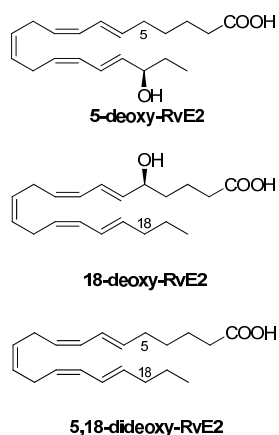
標的タンパク質の探索に用いる分子プローブを合成するために、リンカーを伸長するサイトを調査することとした。すなわち、5-deoxy-CP-RvE2 および 18-deoxy-CP-RvE2 を合成した後、それらの生物活性を評価し、そ

れらが CP-RvE2 と同等の生物活性を維持していれば、5 位あるいは 18 位からリンカーを伸長できると考えた。



4. 研究成果

これまでの研究より RvE2 と CP-RvE2 は同等の生物活性を有することが分かっていたので、5-deoxy-CP-RvE2 および 18-deoxy-CP-RvE2 の代わりに 5-deoxy-RvE2 および 18-deoxy-RvE2、さらに 5,18-dideoxy-RvE2 を合成することとした。その結果、RvE2 の合成方法を活用して効率的にこれら化合物を合成することに成功した。これらを抗炎症活性試験で評価したところ、いずれも RvE2 と同等の生物活性であることが分かった。すなわち、CP-RvE2 の 5 位および 18 位からリンカーが伸長できることが示唆された。



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 1 件)

Design and Synthesis of Cyclopropane Congeners of Resolvin E2, an Endogenous Proresolving Lipid Mediator, as Its Stable Equivalents

Hayato Fukuda, Ryuta Muromoto, Yuuki Takakura, Kohei Ishimura, Ryutaro Kanada, Daichi Fushihara, Makoto Tanabe, Kotaro Matsubara, Toru Hirao, Koki Hirashima, Hiroshi Abe, Mitsuhiro Arisawa, Tadashi

Matsuda, and Satoshi Shuto

Org. Lett. (査読あり), **2016**, *18*, 6224-6227.
DOI: 10.1021/acs.orglett.6b02612

[学会発表](計 8 件)

1. 日本薬学会第 137 年会 (口頭発表)(2017 年 3 月 24-27 日、東北大学川内地区、宮城県仙台市)
「シクロプロパン構造特性に基づくレゾルビン E2 の安定等価体の創製研究」
松原 光太郎、池田 紘之、石村 航平、平島 洸基、室本 竜太、松田 正、福田 隼、渡邊 瑞貴、周東 智

2. 第 34 回メディシナルケミストリーシンポジウム (口頭・ポスター発表)(2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日、つくば国際会議場、茨城県つくば市)
「内因性炎症収束脂質レゾルビン類の創薬化学研究」
池田 紘之、福田 隼、高倉 夕季、石村 航平、平島 洸基、平尾 徹、室本 竜太、渡邊 瑞貴、松田 正、周東 智

3. The XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (ポスター発表)(2016 年 8 月 28 日-9 月 2 日、マンチェスター、イギリス)
「EFFICIENT SYNTHESIS OF ANTI-INFLAMMATORY LIPID MEDIATOR RESOLVIN E1 AND ITS ANALOGUES」
石村 航平、福田 隼、渡邊 瑞貴、周東 智

4. 日本薬学会北海道支部 第 143 回例会 (口頭発表)(2016 年 5 月 14 日、札幌コンベンションセンター、北海道札幌市)
「シクロプロパン構造特性に基づくレゾルビン E2 の安定等価体の創製研究」
松原 光太郎、池田 紘之、石村 航平、福田 隼、渡邊 瑞貴、周東 智

5. 日本薬学会第 136 年会 (口頭発表)(2016 年 3 月 26-29 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市)
「炎症収束脂質レゾルビン E3 及びそのデオキシ誘導体の合成」
池田 紘之、石村 航平、福田 隼、周東 智

6. 第 8 回武田科学振興財団薬科学シンポジウム (ポスター発表)(2016 年 1 月 21-22 日、武田薬品研修所、大阪府吹田市)
「Design and Synthesis of Stable Equivalents of Resolvin E2, a Highly Potent Anti-inflammatory Metabolite of Eicosapentaenoic Acid」
石村 航平、福田 隼、高倉 夕季、金田 龍太郎、平尾 徹、平島 洸基、室本 竜太、松田 正、阿部 洋、周東 智

7. 第33回メディシナルケミストリーシンポジウム(ポスター発表)(2015年11月25-27日、幕張国際研修センター、千葉県千葉市)
「炎症収束性脂質レゾルピン E2 の安定等価体の創製」
石村 航平、福田 隼、高倉 夕季、金田 龍太郎、平尾 徹、平島 洸基、室本 竜太、松田 正、阿部 洋、周東 智

8. 第41回反応と合成の進歩シンポジウム(口頭発表)(2015年10月26-27日、近畿大学11月ホール、大阪府東大阪市)
「内因性炎症収束脂質レゾルピン E2 安定等価体の創製」
福田 隼、高倉 夕季、石村 航平、金田 龍太郎、平尾 徹、平島 洸基、室本 竜太、松田 正、阿部 洋、有澤 光弘、周東 智

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.hokudai.ac.jp/youki/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

福田 隼 (FUKUDA, Hayato)
北海道大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：30434450

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし