

令和元年6月6日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05346

研究課題名(和文) 休眠遺伝子の覚醒で産生される活性天然物をシーズとする難治性疾患治療薬の網羅的開発

研究課題名(英文) Novel screenings for unmet medical needs with innovative new natural product derived compounds

研究代表者

児玉 栄一 (Kodama, Eiichi)

東北大学・災害科学国際研究所・教授

研究者番号：50271151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：植物・微生物の休眠遺伝子を覚醒させ、新規天然物を効率よく創出した。さらにそれを中間体として化学修飾を加え、化学合成では創生できない複数の化合物ライブラリーを構築した。我々が確立した代表的なウイルスと種々のがん細胞に対する革新的スクリーニング法を駆使し、メロテルペノイド系ライブラリーに、破骨細胞における酵素活性抑制効果とウイルス関連悪性腫瘍に特異的に効果を示すことを見出し、NMR解析にて構造を決定した。耐性HIVにも効果を示す逆転写酵素阻害剤も見出すことができた。ケミカルバイオロジー手技を応用し、学理的創薬、難治性疾患治療の向上やunmet medical needsに資する成果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、近年、枯渇しつつある天然物由来新規化合物の効率的な取得を可能とただけでなく、化学修飾を加えることで飛躍的に多様性を有するライブラリーを既存法と比べ簡便かつ短時間に構築できることを明らかとした。希少疾患も含めたアンメットメディカルニーズに対応する新規化合物評価系を複数構築し、骨粗しょう症とウイルス発がんを抑制しうる天然物由来のヒットを見出したことから、我々のライブラリーの有用性を確認した。社会的には、少子化・高齢化に伴う疾患の複雑性に対応する薬剤開発の一助となったと思われる。

研究成果の概要(英文)：In the project, we have successfully established unique and divergent chemical libraries with innovative natural products under up-regulation of the synthetic enzymes and/or pathways of plants or microbes by various anti-silencing agents. Further chemical modifications have been applied to the isolated products and determined chemical structures with nuclear magnetic resonance analysis. In addition, we have also established several novel screening methods for unmet medical needs. Some compounds show new biological activities, such as anti-osteoporosis, anti-cancers associated with virus infections, and anti-viruses. These valuable achievements were published and presented in scientific meetings elsewhere. Our innovative libraries and novel screening systems based on chemical biology may contribute to rational drug designs and developments.

研究分野：ウイルス学

キーワード：感染症 ウイルス 薬学 化学合成 天然物

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在、臨床で使用している薬剤の約 4 割は天然物由来である。例えば、ビンブラスチン（抗がん剤）、ペニシリン（抗生剤）、タクロリムス（FK506；免疫抑制剤）、スタチン（高脂血症治療薬）などがあげられる。現在ではさらなる化学修飾・改変を経て強力な薬効と安全性を確保した薬剤が複数実用化されている。しかし、上記由来の未知の構造を有する化合物の分離は以前と限られてきている。また東南アジアやアフリカ諸国なども現在では植物資源の輸出には非常に慎重もしくは制限がかかっており、新たな天然物を見出すことが困難となってきた。

### 2. 研究の目的

植物や微生物のゲノムに含まれる半数以上の遺伝子は平常時サイレンシングされているが、感染などの非常時に発現が誘導され、個体にとって有利に働くと考えられる。本研究では、エピゲノム制御剤を用いて植物・微生物の休眠遺伝子を覚醒させることにより生物活性が高い化合物を効率よく創出し、我々が確立した革新的スクリーニング法を駆使して、これまでの薬剤とは一線を画す新たな作用機序をもつ化合物ヒットを網羅的に探索する。さらに、ケミカルバイオロジー的手技を応用することにより、学理的な面から医薬品に導き、難治性疾患治療の向上に貢献する。

### 3. 研究の方法

まず、新規天然物の創出に既存および新規転写制御剤の使用を試み、生物活性スクリーニングを実施する。併せてこれまで単離した新たな作用機序を有する抗 HIV 剤の作用点を探る。最も効率的な転写制御剤を用いて、大規模スクリーニングを開始する。さらに unmet medical needs でもある他のウイルスとしてアデノウイルス、サイトメガロウイルス一般と抗結核薬をターゲットとする。また Dengue ウイルスのように P3 レベル以下で扱えるウイルス等の新規アッセイを行う。最終年度はこれらの知見を用いて、構造活性相関や分子間結合能を検討し、前臨床試験に持ち込める化合物を創出する。

### 4. 研究成果

新規天然化合物の創出のために、天然資源の抽出物に対して直接、化合物の分子骨格を変化させる反応を行うことで得られる多様性拡大抽出物から得られる化合物の単離、構造決定を行った。ジャコウ・カンゾウ・コウボクといった薬用植物の多様性拡大抽出物から、新規分子骨格を有した化合物 30 種を同定した。また植物ホルモンを利用して糸状菌の休眠遺伝子の活性化も試みた。その結果、サイトカイニン類が *Arthrinium sacchari* のポリケチド生産を活性化することを見出した。また、新規に化学合成した薬剤も収集し、化合物ライブラリー化を行った。一部は既存の誘導体も購入し、その構造活性相関も検討した。

これら収集した化合物を検討したところ、エンペロープウイルスに対する抗ウイルス活性は見出されなかったが、その一部に抗ガン活性・抗白血病活性があることを見出した。また、失明という臨床的にも大きな問題になるヘルペスウイルスやアデノウイルスによる角・結膜炎に対する *in vitro* アッセイ系はこれまで開発されていなかったが、平成 28 年度にヘルペス角膜炎のモデルを確立したことに続き、アデノウイルスについても構築しえた。この方法は MTT 色素法によって簡便かつ迅速に抗ヘルペス効果または抗アデノウイルス効果を再現性よく検討することができた。既存薬を検討したところ、通常の培養細胞とは異なる活性を示す薬剤を同定することができた。HIV については耐性ウイルスを抑制しうる核酸誘導体を複数見出し、その作用機序や多剤耐性株への効果を検討中である。

抗ウイルス効果では、化学合成した核酸誘導体の中に 1st line で臨床使用される emtricitabine 耐性を示す M184V 変異を有する耐性 HIV 株に対して野生株同様の強い活性を有する一群の化合物を見出した。ウイルス逆転写酵素の機能解析の糸口をつかむ chemical biology tool を同定できた。これら新規核酸を、我々が同定し、現在米国メルク社で臨床開発されている薬剤 EFdA/MK-8591 との比較検討を行った。

平成 28、29 年度の成果を踏まえて、平成 30 年度においては分離した新規天然物の構造展開を行い、多様性に富む化合物を多数生成した。代表的なウイルスと種々のがん細胞に対する生物活性スクリーニングを実施、併せてこれまで単離した化合物の他の微生物への交差活性と作用点を検討した。いくつかの化合物ライブラリーを構築したが、その中でもメロテルペノイド系のライブラリーに抗骨粗鬆効果と抗白血病効果を見出した。前者では破骨細胞株において receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) によって誘導される tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 活性を濃度依存性に抑制した。後者の抗白血病効果は Epstein-Barr virus (EBV) や human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) によって引き起こされる白血病・リンパ腫に効果を示す一方で、他の白血病細胞や肝臓細胞には細胞毒性を示さず、ウイルスによって引き起こされる悪性腫瘍に特異的に効果を示すことを見出した。これらをまとめ、生合成経路の再構築と再設計による糸状菌ゲルペノイドピロンライブラリーの構築と生物活性評価を行い、日本薬学会 医薬化学部会の第 36 回メディスナルケミストリーシンポジウム（京都）にて学会の優秀賞を獲得した。

ケミカルバイオロジー手技を応用し、学理的な面から医薬品に導き、難治性疾患治療の向上や unmet medical needs に貢献することを目的として研究を行い、それに資する成果を得た。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 11 件)

1. Haruhisa Kikuchi, Kosuke Kawai, Yota Nakashiro, Takayuki Yonezawa, Kumi Kawaji, Eiichi N. Kodama, Yoshiteru Oshima. Construction of a Meroterpenoid-like Compounds Library Based on Diversity-Enhanced Extracts. *Chemistry - A European Journal* In press, 2019. 査読有
2. Y. Morishita, Y. Okazaki, Y. Y. Luo., J. Nunoki, T. Taniguchi, Y. Oshima, T. Asai. Use of plant hormones to activate silent polyketide biosynthetic pathways in *Arthrinium sacchari*, a fungus isolated from a spider. *Org. Biomol. Chem.*, 17:780-784, 2019. 査読有
3. Siarot L, Chutiwitoonchai N, Sato H, Chang H, Sato H, Fujino M, Murakami T, Aono T, Kodama E, Kuroda K, Takei M, Aida Y. Identification of human immunodeficiency virus type-1 Gag-TSG101 interaction inhibitors by high-throughput screening. *Biochem Biophys Res Commun.* 503:2970-2976, 2018. 査読有
4. 児玉栄一, 林宏典, 臼井恵美子. 抗ウイルス薬の開発の将来展望 (特集 これからの抗ウイルス療法) *臨床と微生物* 45:685-688, 2018. 査読無
5. 児玉栄一, 抗ウイルス薬の開発 - 今後のアプローチ - 化学療法の領域 33:26-31, 2017. 査読無
6. Bridgette Janine Connell, Sui-Yuan Chang, Ekambaranellore Prakash, Rahima Yousofi, Viswaraman Mohan, Wilfried Posch, Doris Wilflingseder, Christiane Moog, Eiichi N. Kodama, Pascal Clayette, and Hugues Lortat-Jacob. A Cinnamon-Derived Procyanidin Compound Displays Anti-HIV-1 Activity by Blocking Heparan Sulfate- and Co-Receptor- Binding Sites on gp120 and Reverses T Cell Exhaustion via Impeding Tim-3 and PD-1 Upregulation. *PLoS One.*; 11(10): e0165386. doi:10.1371/journal.pone.0165386, 2016. 査読有
7. Zhe Li Salie, Karen A. Kirby, Eleftherios Michailidis, Bruno Marchand, Kamalendra Singh, Lisa C. Rohan, Eiichi N. Kodama, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, Stefan G. Sarafianos. Structural basis of HIV inhibition by translocation-defective RT inhibitor 4'-ethynyl-2'-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA). *Proc Natl Acad Sci USA.*, 113:9274-9, 2016. 査読有
8. Masahiro Watanabe, Koichi Hashimoto, Yusaku Abe, Eiichi N. Kodama, Ryota Nabika, Shinya Oishi, Shinichiro Ohara, Masatoki Sato, Yukihiro Kawasaki, Nobutaka Fujii, Mitsuaki Hosoya. A Novel Peptide Derived from the Fusion Protein Heptad Repeat Inhibits Replication of Subacute Sclerosing Panencephalitis Virus In Vitro and In Vivo. *PLoS ONE* 11: e0162823, 2016. 査読有
9. S. W. Fuchs, G. Lackner, B. I. Morinaka, Y. Morishita, T. Asai, S. Riniker, J. Piel. A lanthipeptide-like N-terminal leader region guides peptide epimerization by radical SAM epimerases - implications for RiPP evolution. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 55:12330-12333, 2016. 査読有
10. エピジェネティック制御を利用する新規医薬資源の開拓, 浅井禎吾, 大島吉輝. *生化学「みにれびゅー」* 88: 643-648, 2016. 査読無
11. 浅井禎吾, 大島吉輝. 微生物の可能性を開拓する-多様な新奇化合物合成のための新しいアプローチ- *現代化学「解説」* 9: 21-26, 2016. 査読無

### 〔学会発表〕(計 8 件)

1. 村上 努, 木村康明, 新美結土, 藤野真之, 片倉秀雄, 鈴木哲朗, 児玉栄一, 阿部 洋. ウイルスポリメラーゼの不可逆阻害を目指した新規 2'-b-セレノ核酸アナログの創製 (O4-018) 第 32 回日本エイズ学会 2018 年 12 月 2 日 (日) ~ 4 日 (火) 大阪国際会議場
2. Siarot Lowela, Chutiwitoonchai Nopporn, 佐藤洋隆, Chang Hao, 小谷治, 横山勝, 佐藤裕徳, 藤野真之, 村上努, 近藤恭光, 本田香り, 長田裕之, 上田一樹, 伊藤嘉浩, 青野俊裕, 児玉栄一, 黒田和道, 武井正美, 間陽子. Characterization of novel HIV-1 inhibitors targeting Gag-TSG101 interaction. (O26-126) 第 32 回日本エイズ学会 2018 年 12 月 2 日 (日) ~ 4 日 (火) 大阪国際会議場
3. Mami Hirano, Masaya Hagiwara, Nahoko Bailey Kobayashi, Tetsuhiko Yoshida, Eiichi N. Kodama, and Ikuhiko Nakase. Development of cell encapsulated gel system for secretion of functional exosomes in cell therapy. The 24th Peptide Forum in Kyoto 2018: International Mini-Symposium on Peptide-Membrane Interaction and Intracellular Delivery. Uji, December 8, 2018
4. 塚田健人, 金子秋穂, 新木翔之, 河治久実, 児玉栄一, 倉石貴透, 村上一馬, 入江一浩, 平田尚也, 諫田泰成, 浅井禎吾. 生合成経路の再構築と再設計による糸状菌ジテルペノイド

- ピロンライブラリーの構築と生物活性評価 (10-5:1P-10) 第36回メディシナルケミストリーシンポジウム 日本薬学会 医薬化学部会 2018年11月28日(水)~30日(金)
5. Yasuaki Kimura, Yushi Niimi, Hideo Katakura, Tetsuro Suzuki, Tsutomu Murakami, Eiichi Kodama, Hiroshi Abe Development of 2-beta Seleno Nucleoside Analogs as Irreversible Inhibitors for Viral Polymerases 第66回日本ウイルス学会学術集会 京都 2018年10月28-30日
  6. 田沼順子, 瀧永博之, 岡慎一, 児玉栄一, 中本泰充, 池田篤史, 小倉直樹, Michael E. Abram, Nicolas A. Margot, Stephanie Cox, Christian Callebaut, Moupali Das ゲンボイヤ配合錠 (GEN;EVG/COBI/FTC/TAF) 投与時の耐性発現症例の検討 第31回日本エイズ学会 2017年11月24-26日 東京
  7. Hitomi Maeda, Satoko Iyama, Chiharu Matsumoto, Kimiyo Nanke and Eiichi Kodama. Characteristics of Hospital Damage and Challenges of Disaster Mitigation Related to the 2016 Kumamoto Earthquakes in Japan. Abst#180 International Nursing Research Conference 2017 The Thailand Nursing and Midwifery Council (TNMC) and the World Academy of Nursing Science(WANS) Bangkok, Thailand, October 20 - 22, 2017
  8. Zhe Li, Karen A. Kirby, Bruno Marchand, Eleftherios Michailidis, Eiichi N. Kodama, Lisa C. Rohan, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, and Stefan G. Sarafianos. Structural Basis of Inhibition and Resistance Mechanism to EFdA, a highly potent NRTI. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings Retroviruses May 23 - 28, 2016 Cold Spring Harbor, NY

〔図書〕(計 0 件)  
該当無し

〔産業財産権〕  
該当なし

〔その他〕  
ホームページ: <http://irides.tohoku.ac.jp/organization/faculty/medicine/kodama.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 大島 吉輝

ローマ字氏名: ( OSHIMA, yoshiteru )

所属研究機関名: 東北大学

部局名: 医学系研究科

職名: 特任教授 ( 客員 )

研究者番号 ( 8 桁 ): 00111302

### (2)研究分担者

研究分担者氏名: 浅井 禎吾

ローマ字氏名: ( ASAI, teigo )

所属研究機関名: 東京大学

部局名: 大学院総合文化研究科

職名: 准教授

研究者番号 ( 8 桁 ): 60572310

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。