

| | | | |
|---------|---|---------|-------|
| 氏名 | 中島 康祐 | | |
| 学位の種類 | 博 士 (理 学) | | |
| 学位記番号 | 博 甲 第 10454 号 | | |
| 学位授与年月日 | 令和 4 年 3 月 25 日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | |
| 審査学術院 | 理工情報生命学術院 | | |
| 学位論文題目 | Elucidation of the Mechanism of Action of New Drug Candidates on Target Proteins (新規治療薬候補化合物の標的タンパク質に対する作用機序の解明) | | |
| 主査 | 筑波大学准教授 | 博士 (理学) | 桑山 秀一 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士 (医学) | 千葉 智樹 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士 (理学) | 丹羽 隆介 |
| 副査 | 筑波大学助教 | 博士 (理学) | 石川 香 |

論 文 の 要 旨

医薬品の探索研究において優れたプロファイルを持つ化合物を同定し生理機能や分子機能の検討によってその標的タンパク質への作用機序を解明することは、基礎科学のみならず医薬品最適化研究の為にも重要である。タンパク質はさまざまな条件下で立体構造が変化するので、化合物がタンパク質のどの立体構造に対して作用をもつかは、化合物によって異なる。また、タンパク質の機能に関わる立体構造の変化は、多くの疾患と密接な関連を持っており、同じ標的タンパク質に作用する化合物でも、タンパク質の立体構造の違いによって得られる薬効が違うことがある。よって、有効な薬理化合物を同定するためには、一つの標的タンパク質に対して異なる作用機序をもつ複数の化合物を同定して作用機序解析を行い、どの作用機序が医薬品として最適であるかを検討する研究が必要となる。そこで著者は、以下の 2 つの創薬研究において新規薬理作用活性をもつ化合物を複数同定し、それぞれの標的タンパク質に適したアッセイ系を利用し作用機序の検討を行い、疾患やその原因となる生命現象の理解の基礎となるデータを取得している。

第一章において著者は、新規ホスホジエステラーゼタイプ 2A (PDE2A) 阻害剤における新規阻害様式について述べている。PDE2A は、記憶、学習、認知に影響を与える中枢神経系疾患における創薬ターゲット分子として注目されている。そこで著者は、まず生理学的条件に近い基質濃度存在下でシンチレーション近接アッセイ法を用いて約 80 万種類の低分子化合物の中からの新しい PDE2A 阻害剤を発見している。PDE2A は、環状ヌクレオチドである cGMP に結合する GAF (cGMP-specific phosphodiesterases, adenylyl cyclases and FhlA) ドメインを有し、GAF ドメインへの cGMP 結合によって cGMP 及び cAMP の加水分解活性が増大する。したがって、PDE2A の酵素活性は GAF-B ドメインに結合する cGMP の適切な濃度の存在下で正のフィードバックを受け、下流の環状ヌクレオチドシグナル伝達を抑制する「ブレーキ」としての役割を有する。著者は、まず既知のいくつかの PDE2A 阻害剤の阻害効果を検討したところ正のフィードバックに有効な濃度 (4 μ M) よりも低濃度 (70 nM) の cGMP 存在下で阻害活性の低下を示すことを見出している。この性質はこれまで報告されておらず、著者は“Low Activity in Low substrate concentration-type (LAL-type)”と命名している。また、著者は自ら発見した PDE2A 阻害剤について同様に検討したところ、この性質を示さない阻害剤が含まれていることを見出している。これらの阻害剤では、既知の阻害剤とは異なって低濃度 cGMP (70 nM) においても高濃度 cGMP (4 μ M) 存在下と同程度の阻害活性を示すものであった。著者はこの性質を“Similar Inhibition-type (SI-type)”と命名している。統合失調症やアルツハイマー型認知症においては、脳脊髄液中の cGMP 濃度が健常者と比較して低いことが報告されており、この低濃度の cGMP が症状発症の一端を担っている可能性がある。著者は、SI-type の阻害様式をもつ今回発見した PDE2A 阻害剤が、これらの疾患における低濃度の cGMP 濃度を正常化する作用において既知の PDE2A 阻害剤より有効である可能性を指摘している。また、LAL-type 阻害様式の性質は、PDE2A の活性部位のみの酵素活性においては観察さ

れないことから、著者は LAL-type と SI-type 阻害剤の性質の違いは阻害剤の GAF ドメインへの直接相互作用の違いによると仮定しこれらの性質を区別する機構の解明を試みている。その結果著者は、LAL-type 及び SI-type 阻害剤は両方とも GAF 結合部位との相互作用を示さず、LAL-type 阻害剤と SI-type 阻害剤の違いの基となる機構は GAF ドメインにおける環状ヌクレオチド結合部位への阻害剤の結合に依存しない別の機構によることを示している。

第二章において著者は、これまで報告されることがない阻害活性様式と結合特性を有する新規 Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated 4 (HCN4) チャネル阻害剤の開発と機能解析について述べている。HCN4 チャネルは右心房近傍の洞房結節において、細胞膜の過分極刺激によって誘導される「If」と呼ばれるペースメーカー電流を発生し、心拍数を調節する。イバブラジンや ZD7288 のような HCN4 阻害剤は、心拍数を抑制することで様々な心疾患の治療のために広く研究されている。これらの化合物は多様なチャネル状態依存性及び結合特性を有することが示されており、HCN4 阻害剤における化学構造、及び阻害様式に多様性が存在する可能性が示唆されてきた。そこで著者は、その多様性を詳しく解析することを目的とし、自動化パッチクランプシステム (IonWorks) を用いて約 16,000 種類の低分子化合物の中からの新しい阻害活性を有する HCN 阻害剤 (Cpd-A, Cpd-B, Cpd-C) を同定している。著者は、これらの分子の阻害活性と結合特性を電気生理学的試験と部位特異的変異導入法により測定することにより、それぞれの HCN4 阻害剤が固有の阻害特性を有することを示している。さらに著者は、部位特異的変異導入法によって、各化合物が C478 残基への相互作用が使用頻度依存性に深く関連することを示している。

審 査 の 要 旨

本論文において著者は、生理的条件に近い濃度の基質存在下でスクリーニングを実施したことにより、これまでに報告されていたものとは異なる阻害様式 (SI-type 阻害) を有する新規 PDE 2A 阻害薬を開発し、この阻害剤の阻害様式が生体内 cGMP 濃度の低い疾患において有効であることを明らかにしている。さらに著者は、自動化パッチクランプシステムを用いたランダムスクリーニングによって多様な阻害特性や結合特性を有する新規 HCN4 阻害剤を同定し種々の阻害様式は心疾患治療薬開発の為の新たな洞察を得るためのツール化合物となる可能性を示している。以上二つの研究成果は、標的タンパク質の生理学的意義や分子機能の探求には新規阻害剤の開発と利用が有効であり、薬剤開発成功のためにはスクリーニング法の開発が特に重要であることを明らかにしている。これらのことは、今後関連研究分野の進展に大きく寄与すると期待される。

令和 4 年 1 月 24 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (理学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。