

論文審査の結果の要旨

氏名 幾田 まり

p16^{INK4A}-CDK4,6-cyclin D-RB の経路の変異は、ヒトの半数以上のガンで見出されている。よって、CDK4 は新規の抗ガン剤の開発に、魅力的なターゲットとなっている。しかしながら、CDK4 以外の kinase に阻害活性をもたない CDK4 特異的な阻害剤を開発することは困難である。特に、CDK ファミリーは高い構造の相同性を持つため、CDK2 などの CDK ファミリー内で選択性を出すのは、困難である。本論文では、タンパク質の立体構造を利用した CDK4 特異的なインヒビター開発に関する研究を行っている。

第 2 章では研究の結果と考察について述べている。論文提出者は、CDK インヒビターのリード化合物である compound I / wild-type CDK2 複合体の結晶構造解析を行っている。その結果、compound I は CDK2 の Leu83 の主鎖との間に水素結合を形成しており、tricyclic amine, ピリジン環については、CDK2 のアミノ酸残基と疎水相互作用をしていることが明らかになった。

CDK4 特異的なインヒビターの開発には CDK4 の構造情報が必要であった。論文提出者は、CDK4 の 3 次元構造情報を得るために、CDK2 の ATP 結合ポケット内を CDK4 型に改変した CDK4 mimic CDK2 の系の構築を行っている。論文提出者は構築した系を用いて compound I / CDK4 mimic CDK2 複合体の結晶構造解析を行い、CDK4 の構造情報を得ている。ところで、CDK4 特異的なインヒビターを見出すには、CDK4 と CDK2 の構造の差異を同定する必要があった。そこで、論文提出者は、CDK4 mimic CDK2 と wild-type CDK2 の ATP 結合ポケットの構造の比較を行っている。その結果 CDK4 と CDK2 の構造の最も特徴的

な違いは、残基 89 (CDK2:Lys, CDK4:Thr) の側鎖の大きさの違いにより、CDK4 には CDK2 に比較して余分なスペースが存在していたことであった。以上より、CDK4 の余分なスペースに結合するような大きな置換基をもった阻害剤は、CDK4 には結合できるが、CDK2 の ATP ポケット内で許容されないと予想された。以上の考察に基づき、compound I に大きな置換基を導入したような化合物がデザインされた。その結果、compound II を代表とするような、CDK4 選択的な阻害剤の合成に成功することができた。

また、論文提出者は、以上の方法で見出された compound II の CDK4 に対する選択性を、*in vitro* 酵素アッセイにより調べている。その結果、compound I は、CDK4, CDK6, CDK2, *cdc2* を同等に抑制しているのに対して、compound II は CDK4, CDK6 を特異的に抑制しており、CDK2 や *cdc2* とは選択性が 100 倍以上あることが示されている。

また、論文提出者は、compound II に導入した置換基が実際に CDK4 の ATP 結合ポケットの余分なスペースに結合しているかどうかを考察するために、compound II / CDK4 mimic CDK2 複合体の結晶構造を決定している。さらに、CDK4 阻害剤デザインの方向性が正当であったかを確認するために、compound II / CDK4 mimic CDK2 の構造と compound I / wild-type CDK2 の構造を比較し、compound II に導入した置換基が CDK2 の中でどのような位置を占めているかについての考察を行っている。その結果、compound II は CDK4 mimic CDK2 の余分なスペースにあてはまっているが、wild-type CDK2 においては、Lys89 の側鎖が立体障害となっていることを明らかにしている。このことは、compound II が CDK2 に対する阻害活性を低下させることで、CDK4 に対する選択性を獲得していることを、よく説明していた。

論文提出者は、CDK2 と CDK4 mimic CDK2 の結晶構造の比較は、CDK4 選

択的な阻害剤の開発に効果的であったことが明らかになり、また、このアプローチは、さらに改良された性質をもつ次世代の CDK4 選択的な阻害剤の開発にも、有用となることを結論づけている。

なお、本論文は、万有製薬つくば研究所の西村暹つくば研究所所長、鎌田健司博士、深澤和臣氏、本間光貴博士、町田卓充氏、平井洋博士、高橋郁子博士、端山俊博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。