

論文審査の結果の要旨

氏名 吉村 千穂子

本論文は全 5 章により構成されている。第 1 章の序論に続いて、第 2 章では HSP90 と複数の阻害剤の熱力学的な相互作用解析を通じ、化合物 THS-510 の結合様式を推定し、その仮説に基づき得られた新規誘導体について、活性の向上に加え、アイソフォーム選択性の獲得という知見を得ている。第 3 章では、明確なポケットを持たず、疎水性のクレフトにより p53 と結合する S100B を対象に、S100B と相互作用を持つと報告のある低分子化合物に関して、結合の熱力学的プロファイルと、p53 との蛋白質間相互作用阻害の有無を明らかにした。これを通じ、S100B 結合化合物が S100B に対しゆらぎの制御を行っているという示唆を得ている。第 4 章では、蛍光偏光法による p53-S100B 蛋白質間相互作用阻害剤のアッセイ系ならびにアッセイ対象となる化合物ライブラリを構築し、Ligand Efficiency の高いヒット化合物を得ると同時にその構造活性相関を明らかにした。さらに、メラノーマ細胞内での蛋白質間相互作用阻害について評価系を構築、得られた阻害剤の細胞内での作用についても知見を得ている。最後の第 5 章は、全体の総括である。

第 2 章においては等温滴定熱量測定により、フラグメント化合物 THS-510 が HSP90 に対してエンタルピー駆動型の結合を示すことを明らかとした。さらには THS-510 の結合様式推定のため、結合様式既知の複数化合物を用いた競合的等温滴定熱量測定を行っている。申請者は、競合的熱力学的解析の結果から THS-510 を 2nd ポケットならびにその周辺領域を利用して結合している化合物であると考察し、さらなる展開と解析を行った。結果得られた新規 HSP90 阻害剤 THS-1593 においては、HSP90 への結合活性の向上と、それに伴う癌細胞株における HSP90 クライアント分解・細胞増殖抑制効果、Her2 発現胃癌株 NCI-N87 のマウス皮下移植モデルにおける抗腫瘍効果が認められた。THS-1593 については細胞質型 HSP90 に対するアイソフォーム選択性が報告されたが、これは HSP90 阻害剤の中でも初めて報告されたものである。

第 3 章、第 4 章では、S100B-p53 蛋白質間相互作用を標的として検討している。S100B に結合することが既知の化合物を用いて熱力学的解析により S100B 表面の特性を考察する過程において、蛋白質間相互作用阻害剤の標的に対し初めて Competitive SITE 法を適用し、従来考えられていた Reference 化合物による発熱のキャンセルとは逆の現象、つまり対象化合物と標的蛋白の混合下に対し Reference 化合物を滴定した際に、Reference 化合物結合時の発熱をエンハンスする、という事象が起こることを見いだしている。申請者はこれに対し、関連する既知共結晶構造の B-factor を解析することで、低分子化合物による標的蛋白のゆらぎ制御を反映しているのではという考察を提示した。さらに申請者

は、S100B-p53 蛋白質間相互作用阻害剤としてより強力な阻害活性を示す化合物を探索するべくハイスループットなスクリーニング系を構築の上、フラグメントライブラリのアッセイ、そのヒットに基づく **Focused Library** を作成・評価し、S100B に結合することで S100B-p53 相互作用を阻害する化合物 (10a) を同定した。また、ライブラリ中の類似化合物群から構造活性相関を提示し、疎水性の浅いクレフトを対象とした場合においても厳密な制御が関与している可能性を示している。化合物 10a については細胞内にて S100B-p53 複合体の形成阻害能を持つことについても **Proximity Ligation Assay** 法を用いて示した。

なお、本論文第 4 章は宮房 孝光、津本 浩平との共同研究であるが、論文提出者が主体となってスクリーニング系構築・阻害剤同定フローの構築・阻害剤の分析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

本研究ではいずれも動的な特性をもつ標的である HSP90 ならびに S100B-p53 を対象として、低分子化合物による阻害剤創製を行った。阻害活性を有する化合物の同定からさらにその活性の向上までを相互作用解析を中心に、複数手法を組み合わせ、広く応用可能なフローとして示し、また実際に複数の阻害剤を同定することに成功している。これは、今後の低分子化合物による創薬の基盤となり、ひいては新たな薬物候補化合物の獲得やこれによる治療機会の提供につながりうるものである。

その価値を考慮し、審査委員の合議により、博士 (生命科学) の学位を授与できると認める。

以上 1 9 3 9 字