

## 平成27年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）
2. 補助事業課題名：大型創薬研究基盤を活用した創薬オープンイノベーションの推進（難治性疾患ターゲットに挑戦する北の化合物スクリーニング拠点形成）
3. 研究開発代表者：国立大学法人北海道大学 大学院薬学研究院 教授 前仲 勝実
4. 研究開発の成果

有機合成医薬学部門及びバイオ医薬学部門の2系統に改変を行い、連携をとりながら支援を行なった。これまでのスクリーニング支援の結果を踏まえ、適宜スクリーニング技術・設備の拡充を行い、標的の検討、アッセイ系の構築・実施からリード化合物の同定、誘導体合成による最適化までシームレスな創薬研究を本拠点単独で可能とした。例として、北大遺伝子病制御研究所から得られたシーズ研究：20万化合物スクリーニングを展開している癌細胞排出促進剤の開発において、先行支援であった1万化合物スクリーニングで得られたヒット化合物(20%促進)よりも高い活性値を示す化合物(80%促進)の同定につながり、フルライブラリーの効率的な運用を行なっている。さらに、北海道大学を含む道内研究機関・病院、さらに道外大学・企業への複数のスクリーニング支援および機器の外部解放を行った。また、コンサルティングおよび技術指導として、道内外の研究機関、病院および企業へ創薬等支援を行なった。若手・女性研究者の育成として、創薬技術に関するセミナー、大学院講義・実習、各種のスキルアップ研修への派遣を行うとともに、国際学会を含むシンポジウム・セミナーを主催し創薬スクリーニングの啓蒙に努め、本事業の目的であるスクリーニング支援とスクリーニング技術・設備の拡充を効果的に展開した。現在までに行なった支援事業を明記する。

- アッセイ系の構築・実施等の支援を含むスクリーニング：24件
  - 東大21万化合物の構造情報整備、3種類のソフトウェアによるドッキングシミュレーション：9件
  - 確定ヒット化合物の同定された創薬候補2件、最適化支援：3件
  - 外部開放機器の利用数：3218件（7件が他大学や企業）
  - 創薬に関するコンサルティングおよび技術指導：69件（うち産業界2件）
  - セミナー・シンポジウム等：製薬会社出身の准教授による創薬についての創薬セミナー5回（各回参加者約80名）、創薬科学研究教育センターセミナー2回（各回50名程度）、IPR/CRED/PDIS Joint International Seminar（出席者約100名）、構造生命科学データクラウドVaProS説明会（参加者数25名）
- ・高度化

21万化合物スクリーニングに向けて高速・高感度・高精度での細胞レベルスクリーニング手法及び熱力学的測定を応用したメディアムスループット相互作用解析系の開発を行った。北大情報基盤センターと連携し複数サーバー利用システムの確立を行い、効率的な*in silico*スクリーニング・表面プラズモン共鳴(SPR)を複合させたメディアムスループット相互作用解析系をそれぞれ確立した。創薬ターゲット蛋白質の発現系を複数構築した。創薬ターゲット蛋白質の立体構造解析を行い、5件の結晶構造を決定した。さらに、L3：パーキンソン病治療薬、L2：自閉スペクトラム症治療薬の開発を行い、各治療薬ともに企業との共同研究を開始した。特に、パーキンソン病治療薬は非常に低濃度で動物での薬効が認められているため、副作用が少ない新規メカニズムの治療薬となる可能性があり、学術的だけでなく、社会的にも非常に価値のある薬剤になりうる。

創薬テーマ研究の成果として、下記の7テーマを代表例として挙げる。

[パーキンソン病薬の創出] 平成27年度は、約50誘導体の合成を行い、リード化合物と比較して1000倍以上の酸化ストレス誘導神経細胞死抑制効果を示す新規誘導体を9化合物得た。その中の1化合物を用いて経口投与でパーキンソン病モデルマウスに対する薬効を確認した。現在、最も強い薬効を示し

た化合物のNon-GLPにおけるPOCの確立に向け、各種の安全性試験および薬効試験を実施準備中である。平成28年3月にPCT出願を行い権利化を実施した。

[エボラ感染阻害剤の開発] 平成27年度は、前年度末に東大のコアライブラリーを対象に、ザイールエボラウイルスの感染阻害スクリーニングでヒットしていた化合物79化合物に対し、Chemkillを行い15化合物に絞り込み、次いでカウンターアッセイとしてエボラウイルス亜型およびエボラウイルス近縁種に対する感染阻害活性を評価した。全てのエボラウイルス亜型に対して選択的に強い感染阻害を示す1化合物を同定し、その化合物の周辺32化合物を集め構造活性相関を評価した結果、構造活性相関が見られたためリード化合物として確定した。今後合成した化合物での活性の再現性の評価で問題がなければ誘導体合成を実施する。

[スプライス異常克服に向けた創薬研究] スプライシング異常を回復する化合物スクリーニングにおいて見出された1つのヒット化合物について誘導体合成を行った。合成は静岡県立大学と共同で行い、構造活性相関への知見を深めた。スプライソソーム構成因子の遺伝子変異は難治性疾患である骨髄異形成症候群や骨髄性腫瘍を引き起こすため、本研究結果はリスクが高く企業が手を出し難い疾患の治療薬となりうる。

[正常細胞による癌細胞排出機構に着目した創薬研究] 正常細胞ががん細胞を識別し、がん細胞を選択的に排除する機構の存在が明らかになってきている。そこで、がんの治療薬・予防薬を目的として、上記の機構を促進する化合物のスクリーニングを実施している。H27年度は引き続きフルライブラリーのスクリーニングを実施し、104のヒット化合物を得た。そのうち、1化合物でこれまでの化合物に比べ3倍ほど強い活性を確認した。また、東大のコアライブラリーと既知薬理活性化合物ライブラリーのスクリーニングから見出したヒット化合物について、論文を発表した (*Scientific Reports*, 2015)。

[細胞分裂を標的とする抗菌剤の創薬研究] バクテリアの細胞分裂に関わる分子の阻害により抗菌活性を示す化合物を探索している。東大21万化合物より *in silico* スクリーニングで495化合物に絞り込み、1次スクリーニングの蛍光相互相関分光法で評価したところ、ヒット化合物が31化合物得られた。二次スクリーニングとして1次ヒットと構造が類似の化合物を取り寄せ888化合物を評価し63化合物がヒットした。63化合物のうち母骨格を考慮した20化合物を、3次スクリーニングとしてSPRを用いて評価した。その中で結合が強い上位6化合物の濃度依存性を確認し、解離定数を算出した。

[GAL-3レクチン阻害剤の創薬研究] 平成27年度は、新規合成ルートを確認し、新たに約20誘導体を合成しSPRによりGAL3の糖鎖結合部位に親和性を測定した。その結果、陽性化合物として知られている乳糖に比べ1000倍以上の親和性を示し、GAL1に対して高い選択性を示す誘導体を見出した。さらに親和性が高い誘導体のデザインのために、現在最も活性の強い誘導体とGAL3タンパク質との共結晶の作成とその結晶構造解析を実施中である。

[酸化還元調節タンパク質を標的とした癌創薬] 腫瘍形成において、小胞体に局在する酸化還元調節酵素が重要な役割を担っていることが近年報告された。この酵素を標的に東大1万化合物ライブラリーから相互作用化合物を示差走査型蛍光定量法によりスクリーニングを行った。平成27年度は、ヒット化合物を用いてSPRによる詳細な相互作用解析を行い、さらに酵素活性解析により阻害能を算出し、既知阻害剤よりも非常に強力な新規阻害化合物の同定に成功した。さらに、ファミリータンパク質を用いた特異性解析を行い、標的タンパク質への特異性が非常に高いことを示した。

他のプロジェクトとしては、単純ヘルペスウイルス感染阻害薬について、結晶構造解析、最適化を行った。また、既にマウスを用いた動物モデル系を確立しており、今後 *in vivo* アッセイ系の支援を行う。さらに、より強い阻害剤の開発のため、<sup>19</sup>F化合物ライブラリーを用いたフラグメントベースドドラッグディスカバリーを行なっている。