









最終試験結果報告書

報告番号	北里大 甲 第 1125 号	氏 名	加藤 晴敏
論文審査担当者	(主査) 北里大学 教授 志鷹真由子 (副査) 北里大学 教授 広野 修一 (副査) 北里大学 講師 藤原 亮一 (副査) 昭和大学 教授 合田 浩明	   	
<h2>成 績</h2> <h3>合 格</h3> <p>[試験結果の要旨]</p> <p>試験担当者は、平成29年1月17日に審査委員会を開催し、加藤晴敏氏に対して、学位論文内容および関連事項に関する諮問を行った結果、十分な学力があるものと認め、合格と判定した。</p> <p style="text-align: right;">以 上</p>			

学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 甲 第 1125号	氏 名	加藤 晴敏
論文審査担当者	(主査) 北里大学 教授 志鷹真由子 (副査) 北里大学 教授 広野 修一 (副査) 北里大学 講師 藤原 亮一 (副査) 昭和大学 教授 合田 浩明	   	
〔論文題目〕 異物応答性核内受容体 CAR による CYP2B6 発現誘導に関する <i>in silico</i> 予測研究			
〔論文審査結果の要旨〕 医薬品開発において、新薬となる化合物には、優れた薬効ならびに十分な安全性が求められると同時に、併用薬に重大な影響を及ぼす薬物相互作用のリスクの回避も求められる。薬物相互作用の機序は様々であるが多くは代謝過程に関連し、特に薬物代謝において重要な役割を果たすシトクロム P450 (CYP) の阻害と誘導がその大部分を占めている。中でも、酵素誘導は化合物により薬物代謝酵素含量および活性が増加する現象としてよく知られ、酵素誘導が引き起こされると、併用薬または投与薬剤自身の代謝が亢進することで血中濃度が低下し、治療効果が減弱する危険性がある。酵素誘導は主に遺伝子発現レベルで調節されており、異物応答性の核内受容体であるプレグナン X 受容体 (PXR)、構成的アンドロスタン受容体 (CAR) および芳香族炭化水素受容体 (AHR) が中心的な役割を果たしている。CAR は CYP2B6 の発現誘導に関与しており、カルバマゼピン等薬剤による CAR 活性化を介する CYP2B6 誘導が知られている。多くの製薬企業で、CYP2B6 誘導リスク評価として、ヒト肝細胞や不死化細胞を用いた <i>in vitro</i> 試験が導入されているが、試験コストやスループットなどの制限があり、CYP2B6 誘導に繋がる CAR 化合物の十分な構造活性相関情報を得るのが難しいのが現状である。 そこで加藤氏は、創薬プロセスで利用できる CYP2B6 誘導予測のための有効的な <i>in silico</i> 手法の確立を目的とし、CAR 活性化能を指標とした 3 次元定量的構造活性相関 (3D-QSAR) モデルの開発を行った。 3D-QSAR モデルの開発の手順は、以下の 1)~3) の通りである。 1) CAR 活性化データセットの整備 HepG2 細胞のような不死化細胞株では CAR は恒常的に活性化し、リガンドの刺激無しに通常存在する細胞質から核内へ移行するため、これまで不死化細胞株を用いた高感度の CAR 活			

性評価は困難であった。そこで本研究では、Chen T. らの報告 (J Pharmacol Exp Ther 2010;332:106-15) に基づき、ヒト CAR リガンド結合部位にアラニンを一残基挿入した変異コンストラクト (hCAR1+A) を HepG2 細胞に導入した高感度のレポーター遺伝子評価系を作成した。次に、市販薬剤、ステロイド、天然物、可塑剤、産業物質および合成化合物を含む幅広い CAR 活性化剤の報告の中から、化学構造の多様性を考慮して 35 化合物を選抜し、hCAR1+A レポーター遺伝子評価を行った。結果として、CAR 活性化能評価の同一試験プロトコルとしては、多様な化学構造ならびに活性からなる最大級のデータセットを整備した。

2) *In silico* ドッキングプロトコルの確立

ヒト CAR の X 線結晶構造 (PDB: 1XVP) をもとに作成した hCAR1+A の蛋白構造を用いた分子動力学 (Molecular Dynamics, MD) シミュレーションを行い、10 個の多様なヒト CAR 蛋白構造のサンプルリングを行った。次に、X 線結晶構造が解かれている 2 種類のリガンドについて、Glide プログラム (Schrödinger Suite 2014) を用い、10 個のヒト CAR 蛋白構造とのアンサンブルドッキングを行った。得られた Glide トップスコアの結合ポーズが、X 線結晶構造の結合ポーズを精度よく再現できていることを確認した。

3) Structure-based 3D-QSAR モデルの構築

1) で整備した CAR 活性化データセット 35 化合物を、モデル構築用のトレーニングセット 28 化合物、およびモデル検証用のテストセット 7 化合物に分割後、2) で確立したドッキングプロトコルに従い、分子アライメントを作成した。得られた分子アライメントと CAR 活性化データから、2 種類の comparative molecular field analysis (CoMFA) モデルを構築した。CoMFA 標準の立体場および静電場のみを使用した「標準 CoMFA モデル」と、脂溶性パラメータを追加した「改良 CoMFA モデル」である。テストセット 7 化合物を用いた検証の結果、「改良 CoMFA モデル」の予測精度は優れていることが確認できた。

以上のように本研究では、CYP2B6 誘導に重要な役割を果たすヒト CAR 蛋白に対する structure-based なアプローチを採用し、ヒト CAR 活性化能を指標とした 3D-QSAR モデルの開発を行った。本研究成果は、創薬の早期段階から、CYP2B6 誘導に関連する薬物相互作用のリスクを低減した医薬品候補の選択に有益な知見を提供できるものと考えられる。このことは、医薬品開発のコストの削減・成功率の向上、患者への安全で使いやすい薬剤の提供に大きく貢献できるものと思われる。

以上より、加藤氏の研究は、博士 (薬科学) の学位を授与するに十分値するものと判断した。