













学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 1631 号	氏 名	三沢 憲佑																
論文審査担当者	<table border="0"> <tr> <td>(主査)</td> <td>北里大学 教授</td> <td>志鷹真由子</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(副査)</td> <td>北里大学 教授</td> <td>奥脇 暢</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(副査)</td> <td>北里大学 教授</td> <td>田中 信忠</td> <td></td> </tr> <tr> <td>(副査)</td> <td>北里大学 准教授</td> <td>西端 芳彦</td> <td></td> </tr> </table>			(主査)	北里大学 教授	志鷹真由子		(副査)	北里大学 教授	奥脇 暢		(副査)	北里大学 教授	田中 信忠		(副査)	北里大学 准教授	西端 芳彦	
(主査)	北里大学 教授	志鷹真由子																	
(副査)	北里大学 教授	奥脇 暢																	
(副査)	北里大学 教授	田中 信忠																	
(副査)	北里大学 准教授	西端 芳彦																	
<p>〔論文題目〕</p> <p><i>In silico</i> フラグメントマッピング法を用いた EED-EZH2 PPI 阻害剤の合理的探索と分子設計</p> <p>〔論文審査結果の要旨〕</p> <p>Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) はメチルトランスフェラーゼ活性を有しており、多くの癌において過剰発現している。そのため、EZH2 の活性サイトを標的とした EZH2 酵素阻害剤がこれまでに数多く開発され、一部臨床試験に供試されている。近年、この酵素阻害とは異なる作用機序として、embryonic ectoderm development (EED) と EZH2 のタンパク質間相互作用 (PPI) 阻害が注目されている。しかし、EED-EZH2 PPI 阻害剤の報告例は少ないため、阻害剤の相互作用情報は乏しく、また大規模な化合物ライブラリーに対しては計算資源の問題から、これまで三沢氏らが検討してきた酵素活性部位を標的とする一般的なドッキング方法だけではスクリーニングが難しいと考えた。そこで本研究では、EED-EZH2 PPI 界面にマッピングされたフラグメントの配置パターン情報を基に、市販化合物ライブラリーに対して 3 次元ファーマコフォアベースバーチャルスクリーニングを行い、得られた阻害剤の結合様式に基づいた新規 EED-EZH2 PPI 阻害剤の合理的分子設計を行った。</p> <p>本研究は、以下の (1) ～ (5) より構成される。</p> <p>(1) <i>In silico</i> フラグメントマッピングを用いた相互作用フラグメント探索</p> <p>本研究開始時に明らかになっていた EED-EZH2 peptide 複合体 (PDB ID: 2QXV) の PPI 界面において、窪みが見られる EED をフラグメントマッピングの対象として選抜した。また、阻害剤の結合メカニズムを考慮して、複合体の PPI 情報および目視を基に定義したマッピング残基 (計 85 残基) を対象として、アポ体 (PDB ID: 3JZN) に対してフラグメントマッピングを実施した。フラグメントマッピングには、本学部創薬物理化学教室で開発された CSFDB および Fsubsite プログラムを用いた。</p> <p>(2) 3 次元ファーマコフォアモデルの構築</p>																			

(1) の結果をうけ、本研究の目的が新たなシード探索であったことから、PPI 界面としては使用されていないが、これまで標的として報告されていない EED のポケットを対象として、フラグメントの配置パターン情報を基にした 3 次元ファーマコフォアモデルを構築した。

(3) バーチャルスクリーニング

次に、市販化合物ライブラリー (486 万化合物) を対象に、(2) で構築した 3 次元ファーマコフォアモデルを用いてバーチャルスクリーニングを実行した。抽出した化合物群に対して、ドッキングベーススクリーニングを実施し、最終的に 16 化合物を選抜した。

(4) 阻害活性評価

(3) で選抜した化合物群の EED-EZH2 PPI 阻害活性評価は、市販のアッセイキットを用いて委託評価した。結果、5 つの化合物 (化合物 5,7,8,11,14) に既存低分子阻害剤である Astemizole と同等以上の活性を確認した。中でも化合物 14 は、活性も高く、過去に報告された EED-EZH2 PPI 阻害剤とは異なる構造を有しており、MD シミュレーションによるドッキング構造の安定性も確認できたため、新たなシード化合物として期待ができると考えた。

(5) 結合様式に基づく新たな阻害剤の分子設計

本研究では、さらなる活性向上を目的に、化合物 14 の結合様式から新たな阻害剤を分子設計した。具体的には、化合物 14 のドッキング構造において、14 のフラン環の隣接部位に空間があることから、化合物 11 の部分構造も参照して、化合物 17, 18 を新たにデザインした。また、MM-GBSA 法によって算出された結合自由エネルギーは化合物 14 (-45.5 kcal/mol) と比較して大幅に向上 (-81.8 , -75.2 kcal/mol) したことから、化合物 17, 18 は EED の窪みに結合することで、活性向上が期待できる化合物であると考えられる。

以上のように本研究では、*in silico* フラグメントマッピング法を用いて、新規 EED-EZH2 PPI 阻害剤として有望な化合物を見出した。今後は、誘導体展開をさらに進めることで、高活性な EED-EZH2 PPI 阻害剤の創製が期待される。また、本研究成果は、現在困難とされている PPI 創薬に対する計算科学的アプローチの有用性を示したものであるという点においても意義深いものと考えられる。

以上より、三沢氏の研究は博士 (薬科学) の学位を授与するに十分値するものと判断した。

以上