

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 Development of Small-molecule Modulators for  
Mammalian Circadian Clock  
(哺乳類の生物時計を制御する小分子の開発)

氏 名 大島 豪

## 論 文 内 容 の 要 旨

生物時計(概日時計)は、昼夜の変化に対応した約 24 時間周期の一日のリズム(概日リズム)を制御する仕組みである。生物は、地球の自転に伴う環境の変化に適応するためにこの生理システムを獲得したと考えられる。哺乳類では睡眠や覚醒だけでなく、ホルモン分泌や代謝活動の制御にも重要な役割を果たす。概日リズムの乱れは睡眠障害や精神疾患、肥満などの生活習慣病の原因にもなるため、生物時計の理解および制御は様々な疾患の克服に役立つことが期待される。

哺乳類の生物時計の研究は時計遺伝子の発見を契機として、近年急速に発展した。遺伝学・分子生物学的アプローチにより概日リズムの中核をなす 4 つの時計タンパク質が同定され、概日リズムを生み出す分子機構が明らかとなった。一方、これらの手法は、概日リズムの制御に遺伝子の改変が必須となるため、医療へと発展させることは困難である。これに対し、近年発見された概日リズムに影響を与える小分子(生物時計制御分子)は、生物時計の機構を解明する分子ツールになるとともに、概日リズムが関連する疾患の特効薬になることが期待される。しかし、発見された化合物の多くは、その作用機序が明らかになっていない。そこで申請者は、合成化学と時間生物学の融合アプローチによる生物時計制御分子の作用機序の解明およびその応用展開を行った。本論文は五章構成である。

第一章では、時計タンパク質に作用することで概日リズムの短周期化を促す分子の開発について論じている。概日リズムの長周期化を促す分子として発見された KL001 は、時計タンパク質 CRY を標的とする初の分子であり、CRY の機能を解明する分子ツールや糖尿病の治療薬への応用が期待されている。しかし、KL001 の分子構造が概日リズムに及ぼす影響の詳細は不明であった。そこで申請者は、KL001 の誘導体合成および生物時計への影響評価を行い、構造活性相関を明らかにした。さらに、炭素-水素結合直接官能基化反応を用いて得られた化合物群の中から概日リズムの短周期化を促す新たな分子群を発見した。より詳細な生物活性評価およびドッキングシミュレーションを実施したところ、これらの分子群も KL001 と同様に CRY への作用を示唆する結果が得られた。

第二章では、CRY を標的とする新たな分子 KL101、TH301 の構造活性相関について論じて

いる。CRY に作用する小分子 KL001 の構造活性相関研究では、カルバゾール部位がリズム周期延長作用の発現に必須であることが示唆されていたが、最新の化合物スクリーニングの結果から CRY を標的とする非カルバゾール分子群が同定された。KL101 と TH301 は共にチエノピラゾールを基本骨格とする小分子であり、概日リズムの長周期化を促す。KL101 と TH301 は CRY のサブタイプ CRY1、CRY2 にそれぞれ選択性を示すことがわかり、わずかな構造の違いが生み出す選択性の違いに興味もたれる。申請者は、KL101、TH301 の構造活性相関研究を行い、KL101 はチエノピラゾール上の硫黄原子の酸化状態、TH301 はシクロアルカン部位の環サイズの大きさを変換することで活性が向上することを見出した。

第三章では、概日リズム調節分子の光活性制御について論じている。近年、生物活性分子に光スイッチ骨格を導入し、光照射による活性の制御を行う光薬理学(photopharmacology)が注目を集めている。申請者は、第二章で発見した生物時計制御分子 TH129 とアゾベンゼンを組み合わせることで光応答性のリズム周期延長分子の開発を行った。合成した分子の光物性評価および概日リズムへの影響評価の結果から、紫外光の照射により生じたシス型のアゾベンゼン誘導体がリズム周期延長作用を示し、白色光照射により生じるトランス型では不活性となった。さらに可視光の照射により異性化することが知られているテトラフルオロアゾベンゼンを用いることで、可視光により活性を発現する分子の開発に成功した。

第四章では、概日リズムの長周期化を促す CK2 阻害剤 GO289 について論じている。GO289 は化合物スクリーニングから新たに見出した概日リズム長周期化分子である。この分子は既知の生物時計制御分子の標的タンパク質である CRY や CK1 に作用を示さないことから、未知の作用機序をもつことが示唆された。そこで申請者は、GO289 の作用機序の解明に取り組んだ。GO289 の構造活性相関研究により、トリアゾール上のフェニル基への置換基導入が最も活性に影響を与えないことを明らかにした。この結果をもとに、GO289 をアフィニティビーズへと固定化した分子プローブを調製し、標的タンパク質のアフィニティ精製を行った。これにより、リン酸化酵素 CK2 を GO289 の標的タンパク質として同定した。GO289 は CK2 に対し選択的かつ高い阻害作用を示し、その結合様式を共結晶 X 線構造解析により原子レベルで解明することに成功した。さらに GO289 はガン細胞増殖の抑制効果を示すことから、概日リズム障害を解決する医薬品だけでなく、抗ガン剤としての応用も期待される。

第五章では、GO289 の薬剤への応用を目指した構造活性相関について論じている。GO289 は、医薬品としての応用が期待されるが、薬剤開発に至るまでに生体内での活性評価や薬物動態などの薬としての物性を明らかにする必要がある。そこで製薬会社との共同研究により GO289 の薬物動態試験を行った。GO289 は低い溶解性と代謝安定性を示したため、アミノ基を導入することで薬物動態特性の改善を行った。種々のアミノ基を検討したところ、ジメチルアミノエトキシ基の導入により、周期延長作用を維持しつつ、溶解性や代謝安定性が向上することを見出した。さらに、ジメチルアミン誘導体のグラムスケール合成に成功し、生体内における薬物動態試験への展開を可能にした。

以上、申請者は合成化学と時間生物学が融合したケミカルバイオロジー研究を行うことで、新規生物時計制御分子の開発やその作用機序の解明に成功した。本研究により開発した分子群は、哺乳類の生物時計機構を解明する分子ツールや概日リズム障害を解決する医薬品としての応用を通じて、生命科学や基礎医学分野の発展に貢献することが期待される。

