

金沢大学がん進展制御研究所共同研究成果報告書

平成24年4月24日提出

対象研究テーマ：HGF-Met系を中心とするがん転移・薬剤耐性のメカニズムと制がん研究

研究期間：2011年4月1日～2012年3月31日

研究題目：HGF-Metの活性化機構に基づく分子創薬研究

研究代表者：大阪府立大学大学院理学系研究科 准教授 木下誉富

研究成果の概要：

HGFβ・ベンゼン誘導体阻害剤複合体のX線構造の再精密化を行なった。明らかとなった相互作用様式は、これまでに合成された100誘導体についての構造活性相関を矛盾なく説明できる。誘導体から3～5Å離れたところに、正電荷及び負電荷サブポケットが存在していることがわかり、これらのポケットを狙ったStructure-Based Drug Designを行なったところ、カルボン酸誘導体に顕著な活性向上が認められた。この化合物のカルボン酸部分は正電荷サブポケットにあるアルギニン残基側鎖と相互作用しているものと推測される。これまでの構造活性相関を整理し、さらに高活性HGFアンタゴニストの創出を目指す。

研究分野：構造生物学、創薬化学

キーワード：X線結晶構造解析、Structure-Based Drug Design (SBDD)

1. 研究開始当初の背景

HGF（肝細胞増殖因子）はMet受容体を介して多彩な生理機能を発揮する。HGFは肝臓をはじめ、腎臓、心血管系、脳神経系など複数の組織において再生や保護を担う生理活性タンパク質であり、HGFを投与・補充することが、肝硬変、腎不全、脊髄損傷、筋萎縮性側索硬化症、皮膚潰瘍など様々な疾患の治癒・改善につながる事が明らかにされている。一方、悪性腫瘍の本態といえるのが、がん細胞のもつ高い浸潤・転移能である。HGFは様々ながんに対して、浸潤・転移を強力に促すことから、HGF-Met受容体系はがんの浸潤・転移阻止につながる分子標的になると考えられている。したがって、HGF-Met受容体系を阻害する分子（HGF-Metアンタゴニスト）は、がんの浸潤・転移・成長阻害につながる新規制がん分子になる。また、矢野ら（金沢大学がん研究所）により、肺がんのイレッサ耐性獲得にHGF依存的なMet受容体の活性化が関与すること、イレッサとHGF-Met阻害の併用療法がイレッサ耐性の克服につながる事が示された。さらに、平尾ら（金沢大学がん研究所）により脳腫瘍（グリオブラストーマ）モデルでの腫瘍幹細胞の浸潤性成長にHGF-Met系の活性化が関与することが明らかにされた。これらの背景をふまえ、

HGF-Met系阻害分子、とりわけ、阻害分子としての独自性、医薬品としての汎用性、チロシンキナーゼ阻害剤に対する耐性出現を考慮すると、HGFとMet受容体の相互作用を細胞外で阻害する低分子化合物医薬は、独自性、汎用性、耐性出現が生じ難い点において優れた抗がん剤になる。

2. 研究の目的

これまでの研究において、このシードとなる化合物とHGFβ鎖のX線構造解析に基づいたStructure-Based Drug Design (SBDD)を行い、ベンゼン骨格を有する新規化合物群を創出している。これらの化合物は活性が減弱するものの最適化探索つまり合成展開上有利になる。これら誘導体とHGFβ鎖との複合体のX線結晶構造情報に基づいたSBDD創薬研究を進めて、HGF阻害活性が飛躍的に向上した医薬品候補化合物を得ることを目指す。

3. 研究の方法

HGFβ-ベンゼン誘導体阻害剤複合体の立体構造を再精密化し、その構造に基づいてHGFβ鎖-Met相互作用面を遮断するHGFアンタゴニストを設計、合成した。得られた誘導体はHGFβ鎖-Metの結合阻害活性、HGF依存的細胞Scattering作用に対する阻害活性、

HGF 依存的 Met リン酸化活性阻害、及びがん細胞の浸潤阻害活性により評価した。HGF 分子内ドメインであるβ鎖の蛋白質サンプルを結晶化用に高純度精製し、各種阻害化合物との複合体の結晶を調製した。この結晶を用いて、高エネルギー加速器研究機構において X 線回折データ測定を行い、構造解析を行った。

4. 研究成果

ベンゼン誘導体の HGFβへの結合様式に基づき、新たに疎水性相互作用および水素結合を形成するように誘導体を設計した。特にベンゼン骨格からそれぞれ 3 Å と 5 Å 離れたところに正電荷サブポケット (図 1 青) と負電荷サブポケット (図 1 赤) を作用する置換基を導入した化合物を合成した。誘導体のほとんどは期待されたほどの活性向上を示さないものの、活性を保持していた。一方、カルボン酸基を導入した誘導体は顕著な活性向上を示した。この化合物はこれまで最強であった化合物と同等の生物活性を示す。

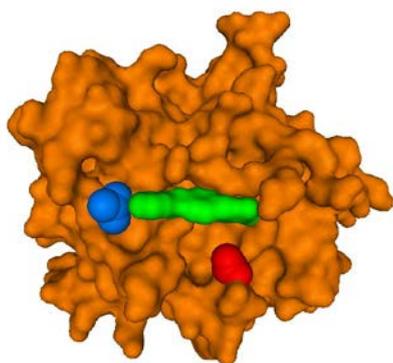


図 1 HGF (橙) とベンゼン誘導体 (緑) の結合様式

この活性向上した化合物のカルボン酸部分は正電荷サブポケットにあるアルギニン側鎖と相互作用しているものと推定される。この化合物の結合様式などの構造情報とこれまでの合成化合物の構造活性相関を整理し、結合ポケットで適切に相互作用するように、Structure-Based Drug Design 研究を展開し、さらなる高活性化合物の創出を目指す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Sakai, K., Nakamura, T., Kinoshita, T., Nakamura, T., and Matsumoto, K. HGF-Antagonists: Structure, Activities,

and Anti-cancer Approach. *Current Signal Transduction Therapy* **6**, 191-199, 2011.

2. Kinoshita, T., Sekiguchi, Y., Fukada, H., Nakaniwa, T., Tada, T., Nakamura, S., Kitaura, K., Ohno, Y., Suzuki, Y., Hirasawa, A., Nakanishi, I., Tsujimoto, G. A detailed thermodynamic profile of cyclopentyl and isopropyl derivatives binding to CK2 kinase. *Moll. Cell. Biochem.* **356**, 97-105, 2011.

[学会発表] (計 8 件)

1. 立体構造を基盤としたシグナル伝達メカニズムの解明とドラッグディスカバリー、木下誉富、プロテイン・モールド関西情報交流セミナー・第 11 回日本蛋白質科学会年会共催

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

1. HGF-Metの活性化機構に基づく分子創薬研究、木下誉富、平成 23 年度金沢大学がん進展制御研究所共同利用・共同研究拠点研究成果報告会 (2011 年 12 月、金沢)
2. SBDDによる毒性回避ーパラレルSBDDー、木下誉富、SAR News No. 21、7-12, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大阪府立大学大学院理学系研究科・准教授
木下誉富

(2) 研究分担者

大阪大学大学院工学研究科・教授 南方聖司

(3) 本研究所担当者

腫瘍動態制御・教授 松本邦夫