

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム  
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: ジアシルグリセロールキナーゼを分子標的とした難治性疾患に対する次世代治療薬の開発
プロジェクトリーダー	: 小野薬品工業株式会社
所属機関	: 小野薬品工業株式会社
研究責任者	: 坂根郁夫（千葉大学）

## 1. 研究開発の目的

ジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)は、がん、生活習慣病、神経疾患など、様々な疾患の発症と関連していることが示唆されているが、これまでに開発された治療薬はまだない。その原因として、DGK の基質や生成物である脂質の取扱いが難しいために簡便な酵素活性測定法がなかったことが挙げられる。原因であったDGKの簡便な活性測定法を確立し、スクリーニングを実施した結果、ヒット化合物を得ることができた。そこで本研究では、ヒット化合物からの活性向上、並びに、培養細胞及び動物モデルでの検討を行い、疾患治療薬としての実用性の検証及び病態制御機序の解明により、難治性疾患治療薬に繋がるリード化合物の創製を目指す。

## 2. 研究開発の概要

### ①成果

DGK 阻害剤の取得をめざし、ヒット化合物から新たな化合物を合成した。これらの DGK 阻害剤や siRNA によるノックダウン手法を用い、複数の細胞株で DGK 阻害にもとづく作用を確認した。また、DGK の生成物であるホスファチジン酸量の変化を質量分析で測定する方法を構築し、動物に投与した化合物の *in vivo* DGK 阻害作用を捉えることを可能にした。これらの検討を経て、病態モデルにおいて有効性を示す化合物が得られた。ただ、これらの化合物には更なる合成展開により改善すべき課題があることも判明した。一方、化合物デザインの参考となる構造情報を得るために DGK 蛋白の X 線結晶構造解析を開始した。研究期間内に結晶化まで到達できなかったが、並行して検討したアミノ酸点変異体での検討により、化合物の阻害メカニズムを推定できた。

研究開発目標	達成度
① <i>in vitro</i> 酵素系、細胞系、及び <i>in vivo</i> 活性の向上した DGK 阻害剤の化学合成	① ヒットから合成した複数の化合物で、酵素・細胞系及び <i>in vivo</i> 系で目標値に達した。ただし <i>in vivo</i> で作用の強い化合物には未達項目もあった。(90%)
② <i>in vivo</i> でのマウス DGK 阻害作用評価系の構築と DGK 阻害化合物の作用の検討	② 質量分析を用いた検討により、DGK 阻害剤化合物を投与したマウスの生体内細胞のホスファチジン酸(酵素反応生成物)量の減少作用を捉えることができた。評価予定の病態モデルのうち、一つのモデルでこの阻害剤が有効性を示した。(80%)
③ DGK 阻害剤の作用の探索及び作用機序の解析	③ DGK 阻害剤を用いることで、複数の組織の細胞株で DGK 由来の作用を確認することができた。(80%)
④ DGK の三次元構造の解析	④ X 線構造解析に向けた酵素蛋白の大量調製及び精製ま

	で進めることができた。また、アミノ酸点変異体を作製することで、DGK 阻害剤が作用する部位を推定することができた。 (70%)
--	--

## ②今後の展開

DGK 阻害剤は新しい作用機序にもとづく難治性疾患治療薬となることが期待されることから、臨床応用可能な化合物の創製を目指し、病態改善機序の解明を進めるとともに、遺伝子解析やリポドミクス技術等を用い、バイオマーカーを活用した的確な治療法を提供することを目指す。

## 3. 総合所見

一定の成果は得られており、イノベーション創出が期待される。

提案時の目標が最終段階まで到達しなかったのは残念である。

得られた化合物の母格構造や誘導体が新たな知的財産権となるので、難治性疾患に対するユニークな治療薬の開発に発展することを期待する。