

リン脂質生合成酵素の新規阻害剤探索

健康デザイン学科 4A 海老原円華 指導：花香博美

共同研究者 山本将大 橋立智美 進藤英雄 清水孝雄

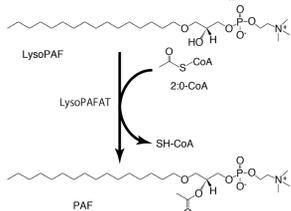
(国立国際医療研究センター研究所 脂質シグナリングプロジェクト)

【緒言】

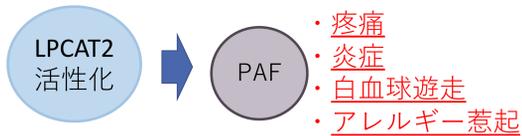
グリセロリン脂質（以下、リン脂質）は、生体膜の構成成分、生理活性脂質前駆体の貯蔵源としての働きがある。リン脂質の生合成の最終ステップはリゾリン脂質アシル転移酵素の反応で行われる。炎症条件下においてはリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素2（以下、LPCAT2）の活性化がおり、リン脂質メディエーターである血小板活性化因子（以下、PAF）が産生される。PAFは疼痛、炎症、血管透過性亢進、白血球遊走、アレルギー惹起などさまざまな病態と関連しており、炎症性疾患に対する治療薬としてLPCAT2阻害薬の開発が求められている。そこで本研究では、LPCAT2の新規阻害薬発見を目指した「ドラッグリポジショニング研究」を行った。

選定方法	選定された化合物の数	
1stスクリーニング	1509化合物を対象として、40 μMでLyso-PAF-AT activity (LPCAT2活性) が20%以下になった化合物	43化合物
2ndスクリーニング	化合物濃度が40 μMでLyso-PAF-AT activity が10%以下になること、且つ0.4 μMで40%以下になった化合物	4化合物

《PAFの生合成反応》



↑既承認医薬品ライブラリー（1509化合物）から候補とする4化合物は、国立国際医療研究センター研究員の吉田（橋立）智美博士が2回のスクリーニングで選定した。



【考察】

〈*in vitro* LPCAT2活性測定〉

- 今回用いた4化合物全てにおいて既知のLPCAT2阻害剤であるTSI-01よりも低濃度で阻害活性を示した。

➡ 4化合物の阻害活性が強力であることがわかった。

〈細胞へのATP刺激によるPAF産生評価〉

- 既知のLPCAT2阻害剤であるTSI-01が100 μMでPAF産生量を抑制しているのに比較して、化合物A,C,Dが10 μMの濃度でPAF産生量を抑制した。

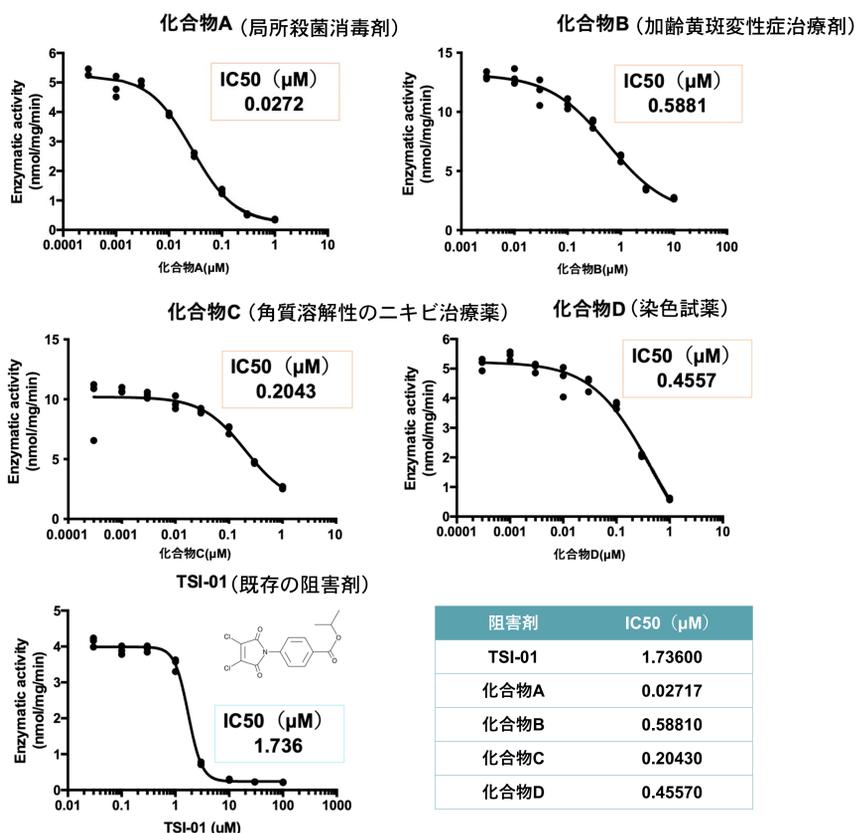
➡ 膜透過性を良くする新規化合物の開発により、細胞内に化合物が届けば効果が発揮されるかもしれない。

化合物A-Dは既承認薬であるため、薬物動態や薬効などの既存情報から今後の研究を進展させられる。今後の研究の発展で、短期間で患者に届けられることを期待したい。

【結果】

〈*in vitro* LPCAT2活性測定〉

LPCAT2阻害薬候補として挙げられた4化合物の※IC50 (μM) は、いずれも既知のLPCAT2阻害剤であるTSI-01よりも低い（阻害活性が強い）値となった。

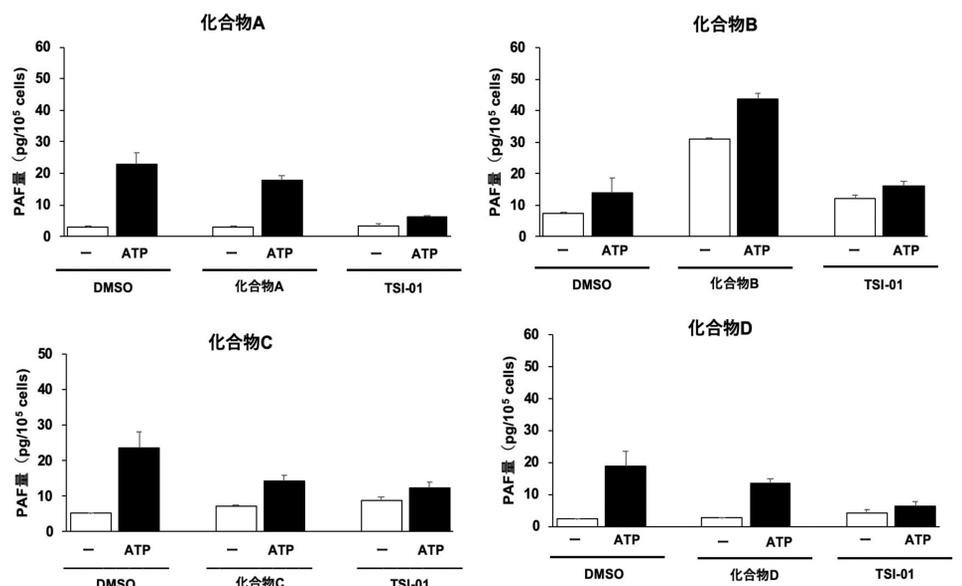


※IC50 (50% inhibitory concentration) : 薬物が特定の生物学的プロセスを50%阻害することができる濃度。

〈細胞へのATP刺激によるPAF産生評価〉

化合物A (10 μM) 処置、化合物C (10 μM) 処置、化合物D (10 μM) 処置はネガティブコントロールのDMSO処置よりもATP刺激をした細胞のPAF産生量を抑制傾向であった。

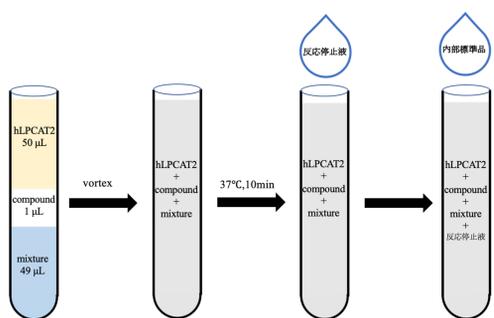
また化合物B (10 μM) 処置においては化合物B (10 μM) の単独処置による刺激でPAF産生を誘導した。



【方法】

〈*in vitro* LPCAT2活性測定〉

基質（PAF前駆体であるlyso-PAFとアセチルCoA）と阻害薬候補となっている化合物を試験管内で混合し、ヒトLPCAT2過剰発現タンパク質を加えて37°Cの温浴中で反応させた。脂質を抽出し、合成されたPAF量からLPCAT2活性阻害のIC50 (μM) を算出した。



〈細胞へのATP刺激によるPAF産生評価〉

化合物を前処置したRAW264.7細胞をATPで刺激した。メタノールで脂質を回収し、精製を行った。LC-MSでPAF量を測定した。

