PROTACs —ユビキチンリガーゼをハイジャックしてタンパク質を分解するキメラ分子—

天児 由佳

Development and Advances of PROTACs: Induced Protein Degradation by Hijacking Ubiquitin Ligase

Yuka Amako

PROTACs (proteolysis-targeting chimeric molecules), which comprise a target protein ligand, an E3 ubiquitin ligase ligand and a linker, induce selective degradation of the target protein by recruiting the E3 ubiquitin ligase. This approach is attracting attention as an alternative of traditional inhibitor-based therapeutics by small molecules. This review briefly summarizes the development and advances of PROTACs.

はじめに

従来の低分子医薬品のほとんどは、受容体や酵素など小分子リガンドに対する結合サイトを持つタンパク質を標的とし、その作用を阻害することで薬効を示す。一方、近年、標的タンパク質をユビキチン/プロテアソーム系を介して分解する合成分子、PROTACs (proteolysis-targeting chimeric molecules) が開発され、盛んに研究が行われている¹⁾。

PROTACs は、タンパク質をユビキチン化する E3 リガーゼのリガンド分子と標的タンパク質のリガンド分子をリンカーで結合したキメラ分子であり、標的タンパク質を“無理矢理” E3 リガーゼに近づけることによりユビキチン化を引き起こし、プロテアソームによる分解へ導く(スキーム 1)。可逆的に作用する阻害剤と異なり、標的タンパク質を不可逆的に分解するため、作用発現のために高い薬物濃度を維持する必要がなく、また、転写因子など低分子リガンドに対する結合サイトを持たないため、これまで創薬標的にならないと考えられてきたタンパク質への適用も期待される。本稿では、PROTACs の開発から近年の研究の進展について概説する。

Scheme 1 Mechanism of protein degradation by PROTACs.

1. ペプチドリガンドを有する PROTACs

2001 年に Dashaies および Crews らによって、最初の PROTACs (1) が報告された(図 1)^{2a)}。1 は E3 リガー

ゼリガンドとして Skp1-Cullin-F box 複合体(SCF)の基質タンパク質 IκBα の部分構造であるポリペプチド (IPP), 標的タンパク質リガンドとしてメチオニンアミノペプチダーゼ 2 (MetAP-2) のリガンド, ovalicin を有する。著者らは、MetAP-2 と 1 を前培養したのち、SCF を発現する細胞抽出物を添加すると MetAP-2 が分解されることを示した。その後、同グループは細胞透過性を改善することで、細胞内で作用する PROTAC の開発に成功し^{2b)}、以降、種々のタンパク質を標的とした PROTACs が報告されている。

Fig. 1 Structure of peptide-based PROTACs.

2. 低分子リガンドのみで構成された PROTACs

初期の PROTACs はいずれも E3 リガーゼリガンドとしてポリペプチドを有しており、分子量の大きさや、合成、精製の煩雑さ、分子の不安定性が課題となっていた。そのような背景のもと、E3 リガーゼ MDM2 のリガンド分子 nutlin が報告されると、2008 年、Crews らにより nutlin, およびアンドロゲン受容体 (AR) リガンドを有する PROTACs (2) が報告された(図 2)³⁾。その

Fig. 2 Structure of small molecule-based PROTACs.

後、E3 リガーゼの小分子リガンドの研究の進展とともに低分子ベースの PROTACs の報告が相次ぎ、2015 年に報告された dBET はヒト由来白血病異種移植マウスへの腹腔投与による腫瘍縮小効果が示され⁴⁾、臨床応用を視野に入れた研究が展開されている。

3. 生体直交型 Diels-Alder 反応による細胞内 PROTACs 形成 —CLIPTACs (click-formed proteolysis targeting chimeric molecules) —

以上のように、低分子ベースの PROTACs が開発されたものの、依然としていずれも 800 程度以上の分子量を有し、さらに分子量の小さい PROTACs の開発が望まれている。Heightman らは、シクロオクテンを有するがんタンパク質 BRD4 のリガンド(3)とテトラゾール環を有する E3 リガーゼリガンド(4)をそれぞれ細胞に添加すると、生体直交型 Diels-Alder 反応により細胞内で PROTAC (5) が形成され、BRD4 が分解されることを示した(スキーム 2)⁵⁾。別途合成した 5 を直接細胞に添加した場合、細胞透過性の乏しさゆえに BRD4 の分解は進行せず、本手法が PROTACs の分子量の問題を解決する新たなアプローチとして有効であることを示した。

Scheme 2 Reaction mechanism of CLIPTACs.

4. PROTACs の分子設計

PROTACs の分子設計に関して系統的な知見を得るには至っていないものの、構造活性相関に関する研究も報告されている。

Kim らは、エストロゲン受容体(ER)を標的タンパク質とした PROTAC 6 について、ER リガンドに導入するリンカーの位置を種々検討し、C-7 位に導入した場合に最も ER との親和性が高くなることを報告している(図 3)^{6a)}。また、同グループは 6 および異なる長さのリンカーを有する誘導体の活性を比較し、16 原子のリンカーを有する 6 が最も効率的に ER を分解する一方、19 および 21 原子のリンカーでは分解がほとんど進行せず、

Fig. 3 Structure of PROTAC 6.

リンカーの長さが PROTACs の活性に大きな影響を与えることを示した^{6b)}。

Crews らは、慢性骨髄性白血病の原因となるタンパク質 BCR-ABL, および c-ABL を標的とした PROTACs において、用いる E3 リガーゼによって、BCR-ABL と c-ABL の選択性が変わることを報告し、E3 リガーゼの選択が PROTACs の活性に影響を与えることを示した⁷⁾。さらに、2017 年、Ciulli らは標的タンパク質-PROTAC-E3 リガーゼ複合体の X 線結晶構造解析に初めて成功し、結晶構造に基づいて PROTAC の構造を一部変えることにより、活性を向上させることに成功している⁸⁾。

おわりに

PROTACs は E3 リガーゼの選択性を変え、標的タンパク質を無理矢理分解するという、従来にない作用機序を有する合成分子である。分子量の大きさゆえ、体内動態などに課題は残るが、合成分子医薬品による疾病治療の新たな可能性を示しており、臨床応用に向けた今後の研究の発展が期待される。

文 献

- (a) M. Toure, C. M. Crews, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 1966 (2016); (b) G. M. Burslem, C. M. Crews, *Chem. Rev.*, **117**, 11269 (2017)
- (a) K. M. Sakamoto, K. B. Kim, A. Kumagai, F. Mercurio, C. M. Crews, R. J. Deshaies, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 8554 (2001); (b) J. S. Schneekloth, Jr., F. N. Fonseca, M. Koldobskiy, A. Mandal, R. Deshaies, K. Sakamoto, C. M. Crews, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 3748 (2004)
- A. R. Schneekloth, M. Puchault, H. S. Tae, C. M. Crews, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 5904 (2008)
- G. E. Winter, D. L. Buckley, J. Paulk, J. M. Roberts, A. Souza, S. Dhe-Paganon, J. E. Bradner, *Science*, **348**, 1376 (2015)
- H. Lebraud, D. J. Wright, C. N. Johnson, T. D. Heightman, *ACS Cent. Sci.*, **2**, 927 (2016)
- (a) K. Cyrus, M. Wehenkel, E.-Y. Choi, H. Lee, H. Swanson, K.-B. Kim, *ChemMedChem*, **5**, 979 (2010); (b) K. Cyrus, M. Wehenkel, E.-Y. Choi, H.-J. Han, H. Lee, H. Swanson, K.-B. Kim, *Mol. Biosyst.*, **7**, 359 (2011)
- A. C. Lai, M. Toure, D. Hellerschmied, J. Salami, S. Jaime-Figueroa, E. Ko, J. Hines, C. M. Crews, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 807 (2016)
- M. S. Gadd, A. Testa, X. Lucas, K.-H. Chan, W. Chen, D. J. Lamont, M. Zengerle, A. Ciulli, *Nat. Chem. Bio.*, **13**, 514 (2017)

(2017 年 11 月 30 日受理)

天兒由佳 Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University 博士研究員 博士(薬科学)
 [所属研究室主宰者] Christina M. Woo 教授
 [経歴] 2015 年日本学術振興会特別研究 (DC2), 2017 年千葉大学大学院医学薬学府先端創薬科学専攻博士課程修了(西田篤司教授), 同年 4 月より現職(上原記念生命科学財団ポスドクフェロー, 村田海外留学奨学会第 48 期奨学生)。[受賞等] 日本化学会第 97 春季年会学生講演賞受賞。[専門] 有機合成化学, ケミカルバイオロジー。[連絡先] e-mail: yuka_amako@fas.harvard.edu