

課題番号 27

# 脂肪酸結合タンパク質に対するリガンドの親和性及び特異性の検討

## [1] 組織

代表者：福永 浩司

(東北大学大学院薬学研究科)

対応者：荒井 啓行

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：篠田 康晴(東北大学大学院薬学研究科)

八戸 嵩仁(東北大学大学院薬学研究科)

研究費：物件費 30万円

## [2] 研究経過

レヴィー小体病は、 $\alpha$ -シヌクレイン ( $\alpha$  Syn) からなる細胞内凝集体を臨床所見とする疾患で、レヴィー小体型認知症、パーキンソン病を含む疾患である。今回、認知症に対する  $A\beta$  やタウ PET リガンドの開発で著名な荒井先生らとの共同研究により、FABP3 低分子リガンドの  $\alpha$  Syn 凝集抑制機構の解明を目的とし、その初期段階として、FABP3, 4, 7 に対するリガンドの親和性を検討した。

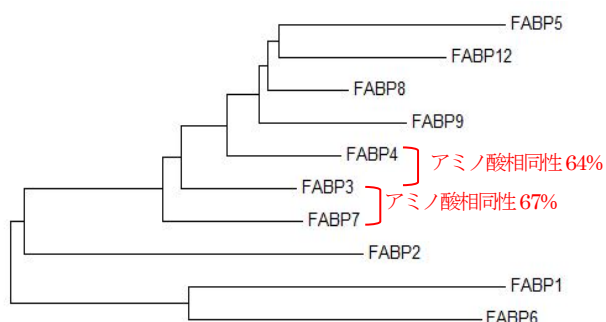


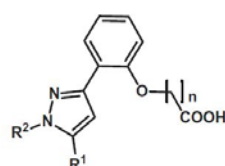
図1. FABP 遺伝子の進化系統樹

これまで主に FABP4 に対する特異性の強い化合物に関する報告が見られる一方、FABP3 に特異性の強い化合物に関する報告はない。

特段問題などは発生しなかったため、本年度中に研究打ち合わせ等は行わなかった。

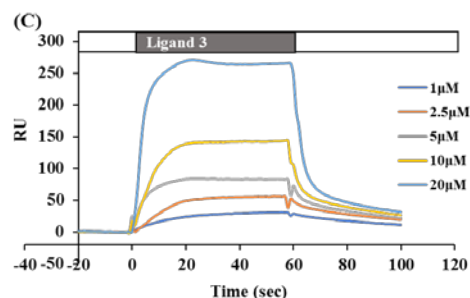
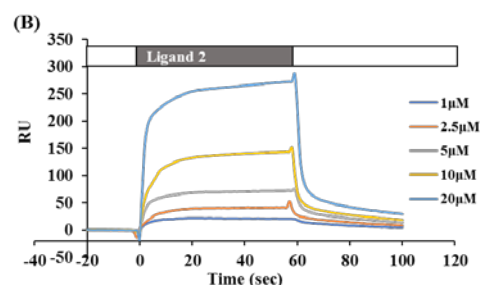
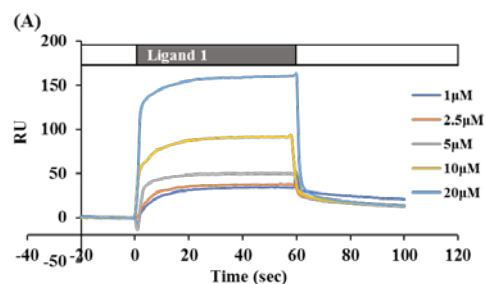
## [3] 成果

(3-1) 研究成果



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	n
Ligand 1	2-ClPh	Ph	3
Ligand 2	Ph	4-BrPh	3
Ligand 3	Ph	3,4-ClPh	3
Ligand 4	Ph	2-MeOPh	3

Beniyama らは FABP4 の特異的阻害剤 BMS309403 から合成展開を行い、FABP3 に親和性を有する化合物の探索を行った。この報告に基づき、今回は上図に示す Ligand1-4 について、今回 GST-FABP3、4、7 に対する親和性を Biacore により検討した。



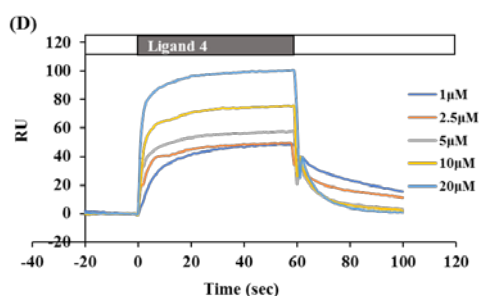


図2. GST-FABP3 に対するリガンド 1-4 の結合各 Ligand で濃度依存的な反応曲線が得られた。

GST-FABP3 を固定化したチップに様々な濃度のリガンド 1-4 をそれぞれ灌流させた時の反応曲線を図 2 に示した。同様の検討を FABP4 および 7 についても行い、それらの結果から親和性の指標である解離定数 Kd を求めた (表 1)。

	GST-FABP3	GST-FABP4	GST-FABP7
Ligand 1	1.98±0.38	0.81±0.63	518±48
Ligand 2	6.31±0.78	8.55±2.08	2070±314
Ligand 3	1.24±0.2	1.02±0.23	483±68
Ligand 4	3.29±0.87	0.88±0.67	261±87

表1. GST-FABPs に対する各リガンドの Kd 値(μM)

結果として、4 つのリガンド全てが FABP4 と FABP3 にほぼ同程度の親和性を示した。一方で、FABP7 に対する親和性は比較的低いことが明らかとなった。

### (3-2) 波及効果と発展性など

レヴィー小体病の治療薬の探索・開発を主目的とした本研究課題は、日本医療研究開発機構 (AMED) の脳科学研究戦略推進プログラムに採択され、他機関所属の研究者・医師などと連携して現在研究を行っている。本共同研究においては、初期段階となる FABP3 に特異性の高いリガンドの探索を行った。今後も引き続き同様の検討を行っていく予定である。

### [4] 成果資料

Beniyama Y, Matsuno K, Miyachi H. Structure-guided design, synthesis and in vitro evaluation of a series of pyrazole-based fatty acid binding protein (FABP) 3 ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013 23(6): 1662-6.

Brummel BE, Braun AR, Sachs JN. Polyunsaturated chains in asymmetric lipids

disorder raft mixtures and preferentially associate with  $\alpha$ -Synuclein. *Biochim. Biophys. Acta* 2017 1859: 529-36.

Furuhashi M, Tuncman G, Görgün CZ, Makowski L, Atsumi G, Vaillancourt E, Kono K, Babaev VR, Fazio S, Linton MF, Sulsky R, Robl JA, Parker RA, Hotamisligil GS. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature* 2007 447: 959-65.

Hanhoff T, Lucke C, Spener F. Insights into binding of fatty acids by fatty acid binding proteins. *Mol. Cell. Biochem.* 2002 239: 45-54.

Ilijina M, Tosatto L, Choi ML, Sang JC, Ye Y, Hughes CD, Bryant CE, Gandhi S, Klenerman D. Arachidonic acid mediates the formation of abundant alpha-helical multimers of alpha-synuclein. *Sci. Rep.* 2016 6: 33928.

Maekawa M, Owada Y, Yoshikawa T. Role of polyunsaturated fatty acids and fatty acid binding protein in the pathogenesis of schizophrenia. *Curr. Pharm. Design* 2011 17: 168-75.

Shioda N, Yabuki Y, Kobayashi Y, Onozato M, Owada Y, Fukunaga K. FABP3 protein promotes  $\alpha$ -synuclein Oligomerization associated with 1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity. *J. Biol. Chem.* 2014 289: 18957-65

Shioda N, Yamamoto Y, Watanabe M, Binas B, Owada Y, Fukunaga K. Heart-type fatty acid binding protein regulates dopamine D2 receptor function in mouse brain. *J. Neurosci.* 2010 30(8): 3146-55.

Tan MC, Matsuoka S, Ano H, Ishida H, Hirose M, Sato F, Sugiyama S, Murata M. Interaction kinetics of liposome-incorporated unsaturated fatty acids with fatty acid-binding protein 3 by surface plasmon resonance. *Bioorg. Med. Chem.* 2014 22: 1804-8.