

国際共同研究事業
国際化学研究協力事業（ICG プログラム）
事後評価 書面評価表

所属機関・部局・職・氏名 京都大学大学院・医学系研究科・准教授・小林 拓也

研究課題名：G蛋白共役受容体のアロステリック制御を目的とした新しい化学的基盤の確立

1. これまでの共同研究を通じて得られた成果

以下に示す評価資料の参照箇所をご参照のうえ、ポイントとなる観点から、**評点及びコメントをそれぞれ付してください。**

観 点	当該共同研究課題を実施したことによる成果の達成度。(研究計画を基準とし、それとの比較における達成度とする。) 学術的価値、相手国との共同研究の意義、社会的貢献、若手研究者養成への貢献、将来発展可能性等につき、どの程度成果があったかへの評価。
参照箇所	【実施計画書】 【共同研究報告書】 「6. 研究概要」、「8. 研究の成果」、「9. 研究発表」

該当する□に印を付してください。

評 価
総合評価 (案)
<input type="checkbox"/> 想定以上の成果があった。 <input type="checkbox"/> 概ね成果があった。 <input checked="" type="checkbox"/> ある程度成果があった。 <input type="checkbox"/> 成果があったとは言えない。
コメント
<p>・共同研究を通じて「学術的側面」・「若手研究者の養成」・「将来発展可能性」の観点から成果があったか。</p> <p>「学術的側面」</p> <p>本計画では米国側で先行している$\beta 2$ アドレナリン受容体に関する成果を参考として、ムスカリンM2受容体の構造化学解析を実施した。学術的成果はまだ公表されていないが、困難とされる膜型受容体の結晶化の手法を習得するという実質的な部分は達成されたと判断できるので、一定の成果は上がったと判断できよう。しかしながら、ムスカリンM2に関しては先行論文が出ており、ムスカリンM3 (Nature 482, 552, 2012)に加え、ごく最近ムスカリン M1 とムスカリン M4 の結晶構造も発表されたため (Nature 531, 335, 2016)、本研究の新規性や波及効果は薄れつつある。</p> <p>現在、申請者らは、ムスカリンM2受容体の活性化に伴う構造と機能変化に関する新規知見を得つつ、ムスカリンM2にGタンパク質が結合した複合体の構造解析に挑戦しているので、今後、これらの成果が論文として発表されることを期待したい。</p> <p>「若手研究者の養成」</p> <p>申請者のグループから共同研究先 (スタンフォード大) に2名の研究者を中・長期間派遣し、共同研究の推進と日本側への新規技術導入に寄与しており、若手研究者の育成にも貢献したと思われる。研究員の研究成果が論文として公表されていないことから若手研究者の養成を判断する材料が乏しい面もあるが、世界最先端の研究室で研鑽を積むことは、次世代を先導する研究者育成という点は高く評価できる。</p>

「将来発展可能性」

将来発展可能性として、目的タンパク質の安定な複合体が得られたことにより、構造解析への道をひらいたことが記載されており、将来的に研究成果が良好な論文成果として発表されることは十分に期待でき、新たな課題を一緒に進めるであろう方向性が見えてきている点は評価できる。

また、電子顕微鏡による構造解析への挑戦も興味深い。化合物との共結晶を解析することで、不安定な活性化中間体の立体構造の解析が可能になったことの学術的意義はある。

・共同研究の成果として優れた研究業績が発表されたか。

研究発表（雑誌論文）に査読付論文3件が記載されている。うち1件はNature誌であるが、本研究の対象であるムスカリンM2受容体に関する成果ではなく、共同研究相手先との共著でもない。共同研究の成果としての研究業績（投稿論文）はこれからとのことであり、発表は成されていない。また、この成果についてはデータを伏せているため判断ができない。従って本共同研究の成果としては、現在のところ優れた成果発表には至っていないと評価せざるを得ない。

・本事業により得られた成果の社会への還元があったか。

申請者は本事業からの社会への還元として、Gタンパク質を結合したムスカリン受容体をモデルとした化合物探索や、有効化合物をインシリコで探索することにより新薬開発のコストや時間を削減したいと記載しているが、成果に記載されている項目と直接の関係はなく、現状では成果は発表されていないので、社会還元は十分とはいえない。

・当初予期していなかった活動成果があったか。

当初予期していなかった活動成果は必須のものではないが、もう一つの目標であったはずの、この結晶構造解析結果に基づく創薬探索に関する考察として、当初の予想通りであったのか、新たな標的が考えられたのかについて記載されていないため、予期せぬ成果があったかについては不明である。

また、国際共同研究を遂行することで、日米両研究室に連帯感が生まれたということが記載されており、この点は重要であるが、当初予期しなかった活動成果としては物足りない。

2. 事業の実施状況

以下に示す評価資料の参照箇所をご参照のうえ、ポイントとなる観点から、**評点及びコメントをそれぞれ付してください。**

観 点	事業の日米両国参加者の実施体制や共同研究課題の設け方、実施にあたっての枠組みの適切性、研究者交流の位置付け及び実施内容の適切性、米国との協力の状況、経費の執行状況への評価。
参照箇所	【共同研究報告書】 「5. 研究組織」、「6. 研究概要」、「7. 派遣・受入実績」、 「8. 研究の成果（2）米国との交流実績」、 【委託費支出報告書】

該当する□に印を付してください。

評 価
総合評価（案）
<input type="checkbox"/> 想定以上に効果的に実施された。 <input checked="" type="checkbox"/> 概ね効果的に実施された。 <input type="checkbox"/> ある程度効果的に実施された。 <input type="checkbox"/> 効果的に実施されたとは言えない。
コメント
<p>・ 事業の課題達成に向けて、「共同研究」「セミナー」「研究者交流」を適切に計画し、実施したか。</p> <p>共同研究の目的は明確であり、米国の共同研究先に研究者を送り、M2 受容体タンパク質の結晶化の手技を修得することにある。そのために 2 名の研究員を、会議ならびに相手先へ重複なしに派遣しており、結晶化を完成させる所まで漕ぎ着けたことは何よりの成果と評価できるので、「共同研究」が計画的に実施されたと言える。また長期の滞在により人的な交流もでき、特に若手研究者の養成という観点からも有意義であったのではないだろうか。</p> <p>他方、平成 25 年に Kobilka 教授が 3 日間京都大学を訪問しているが、それ以外の来訪はなく、また「セミナー」を実施した記載はないため、研究者交流やセミナー開催という点では不十分と考えられる。</p>
<p>・ 日米両国参加者間の共同研究実施体制・協力体制等は適切であったか。</p> <p>米国側で先行している $\beta 2$ アドレナリン受容体に関する成果をもとに、ムスカリン M2 受容体の構造化学解析を計画し実施しており、合理的な共同研究実施体制を組んでいるといえる。</p> <p>その一方で、共同研究が開始された 10 ヶ月後に共同研究先から論文が投稿され（提案者の寄与なし）、当初の目的とする成果が出されてしまったことについては、事前の相談でテーマ設定を修正するなどの対応もできたのではないかと考えられ、意思の疎通のなさが感じられる。この関係が 3 年間の共同研究で解消されたのかという点が今後も含めて危惧される点である。</p> <p>また、本計画では当初から Kobilka 教授グループ以外にカリフォルニア大学の</p>

Shoichet 教授グループとの共同研究を企画していた。研究期間内に Kobilka 教授グループとは研究員派遣など密接な共同研究がなされたが、Shoichet 教授グループとの交流成果の記載が全くなく、実質的に京大と Kobilka 教授グループ間のみで共同研究が遂行されたと思われる。今後、結晶構造の解明後に Shoichet 教授と共同研究を行う可能性はあるが、本研究期間内の実施・協力体制としては有効に構築されたか疑問である。

・共同研究の実施にあたり、適切に経費が執行されたか。

詳細は不明だが、平成 25 年度の支出において、「その他の経費」が 30 万円の予定から 342 万と大幅に増加している。このため、消耗品費が当初計画の 598.5 万円から 259 万円へ減額している。計画では 200 リットルの昆虫細胞培養から結晶化に使用するムスカリン M2 受容体を調整する予定であったので、サンプル調整量や結晶化に多大な影響があったのではないかと推測される。経費の多くは若手研究者の雇用と消耗品に使用されているが、これらは必要不可欠の経費であり、経費は概ね当初の計画通りに使用されたと考えられる。

3. 今後の共同研究実施

以下に示す評価資料の参照箇所をご参照のうえ、ポイントとなる観点から、**評点及びコメントをそれぞれ付してください。**

観 点	・ 事業終了後も継続的な研究交流活動の実施が期待できるか。
参照箇所	【共同研究報告書】 「5. 研究組織」、「6. 研究概要」、「8. 研究の成果 (5) 将来発展可能性」

該当する□に印を付してください。

評 価
総合評価 (案)
<input type="checkbox"/> 想定以上の成果が期待できる。 <input checked="" type="checkbox"/> 概ね成果が期待できる。 <input type="checkbox"/> ある程度成果が期待できる。 <input type="checkbox"/> 成果が期待できない。
コメント
<p>・ 事業終了後も当該分野における世界的水準の継続的な研究交流活動の実施が期待できるか。</p> <p>本共同研究で実施されたムスカリン M2 受容体に関する成果が未発表であることから、成果のインパクトは明らかではないが、「ムスカリン M2 受容体と G タンパク質との共結晶化による構造解析」という方向へ研究が発展したことは、大きな意義があったものと評価できる。</p> <p>その一方で、提案者がどれだけ主体的に今後の研究テーマに関与し、対等な関係を保ちつつ共同研究が可能なのかという点について、やや疑問が残る。その理由は、今回の研究課題であるムスカリン M2 受容体とアロステリック化合物との共結晶については、共同研究半ばに共同研究者の Kobilka 教授が Nature (Artricle) に論文を発表したが、Kobilka 教授のグループは、提案者とは独立に研究テーマが進行していたように推察されるからである。ただ同グループは、GPCR の X 線結晶構造解析で世界の最先端を進む研究室で、ムスカリン受容体以外にも β2-アドレナリン受容体 (Cell 2013; Nature 2013; Cell 2015)、μ-オピオイド受容体 (Nature 2015) など重要な膜タンパク質の構造を次々に明らかにしており、このような先進的な研究グループとの共同研究により、申請者グループが米国のグループの手法を習得し結晶化に成功した点は評価できる。</p> <p>申請者グループでは、本事業終了後も研究員 1 名が Kobilka 教授研究室に残って研究を継続しており、膜タンパク質結晶化に関わる最先端技術や方法論を取得しつつ、共同研究の推進を図っている。また、申請者らも G タンパク質と M2 複合体の立体構造を認識する抗体を作製することで研究支援を行うとのことで、高水準の継続的、かつ先方の研究者と対等の関係で研究交流活動を行い、将来的に重要な成果発表に至ることは十分期待できる。</p> <p>さらに、継続中の M2 ムスカリン受容体の研究により、同受容体が β2 アドレナリン受容体とは異なる独自の制御機能を持つことが明らかとなる、あるいは両受容体の解析結果の比較から GPCR を対象とする創薬等にこれまでにない貢献となる、といったことになれば、本共同研究が世界的水準の継続的な研究交流活動につながると期待される。</p>

4. 総合的評価（書面評価）

該当するアルファベットを○で囲んでください。

評 価
総合評価（案）
<p>A 当初設定された研究計画は想定以上に達成された。</p> <p>B 当初設定された研究計画は概ね達成された。</p> <p>C 当初設定された研究計画はある程度達成された。</p> <p>D 当初設定された研究計画はほとんど達成されなかった。</p>
コメント
<p>本共同研究はGタンパク質共役受容体(GPCR)の一つであるムスカリン性アセチルコリン受容体 M2 のアロステリックサイトにモジュレーター作用をもつ化合物が結合した複合体の結晶構造をスタンフォード大学のKobilka教授グループ及びカリフォルニア大学サンフランシスコ校の Shoichet 教授グループとともに解明することを目的として企画された。研究内容としては、Kobilka ら（2013年）の論文と同じではあるが、現時点でオルソステリックリガンドとアロステリックモジュレーター（化合物名は不明）の結合した M2 受容体の結晶構造が 2.9Å の分解能で決定できたとのことであり（詳細が不明で、上記論文との比較がない）、(1) 米国グループの技術を習得し難解な GPCR の結晶化に成功したこと、また、(2) リガンド等との共結晶化も達成できた点で、有意義な共同研究であったと評価できる。また、(3) 新たな課題、すなわち M2 受容体と G タンパク質との共結晶化による構造解析という方向へ発展したことは大きな意義があったと評価できる。</p> <p>ただし、以下の疑問点に関しては報告書や計画書からは読み取ることができなかった。</p> <p>初年度は、主にタンパク質発現系の構築を行ったものと読み取れる。2年目はタンパク質の大量調製とリガンドアフィニティカラム、さらには抗 FLAG 抗体を用いた組換え体タンパク質の大量精製を行っており、計画通りスタートしたものと推察できる。しかしながら、平成25年7月の時点では、Kobilka 教授のグループは酵母による従来の手法などを用いて、アゴニストと nanobody を結合させた M2 受容体の共結晶の構造解析を報告し、さらに positive allosteric modulator LY2119620 とアゴニスト iperoxo の結合部位も特定しており（Nature 504, 101 (2013)）、アロステリックな制御を明らかにしている。提案者らは既に同じ研究を Kobilka 教授と共同研究をしていたはずであるが、5種存在するムスカリン性アセチルコリン受容体のうち4種の構造が本共同研究とは独立して Kobilka 教授グループから発表されるに至っている。あくまで推測に過ぎないが、提案者とは別個に同一の研究を Kobilka 教授のグループは進めていたものと推察され、計画前の時点で研究内容に関する意思の疎通があったのかについて疑問が残る。</p> <p>その後、前述の Kobilka らの報告は、活性化途中の中間構造と考えられるためとの理由から、申請者の研究計画は方向修正され、M2 受容体と Gi タンパク質の複合体の共結晶化という、より高難度の結晶構造解析に挑戦している。この修正のために、G タンパク質との結晶化の前段階として、ループ長の伸長や安定性などの検討を行っている。申請者らは、2つの化合物が結合した M2 の構造解析に成功した一方で、Gi タンパク質の大量調製というあらたな課題に直面するが、これに関してはどの段階まで進捗したのか記載はなく、まだ予備的検討の段階と推察する。また、当初の目標である M2 受容体特異的な薬剤の探索は Kobilka らの報告に基づき精査できるはずであるが、このデータに基づくアプローチについてどこまで検討したのかについての記載がない。この点について検討はしなかった</p>

のか、単に記載しなかったのかについて、報告書から読み取ることができなかった。

また、本研究期間内に限ると、Nature 誌などへの論文発表があるものの、本事業成果として雑誌論文（国際誌）には未発表であるため、直接的な成果発表には至っておらず、研究は進行中である。したがって、終了時の研究評価としては「ほとんど達成されなかった。」とすることも可能である。また、申請者はこの事業を単に日本側若手研究者の派遣費用とサンプル調整の原資として使用しているため、研究者の相互交流、セミナー開催、社会への還元という観点での活用は乏しかったと評価せざるを得ない。特に、研究参加者として当初から加わっていた Shoichet 教授グループとの具体的成果は不明であり、実質的に Kobilka 教授研究室への研究者派遣・試料提供費用として利用されたと思われる。米国側参加者として記載されていた研究員（2名）の貢献も不明である。できれば、これら米国側研究員を来日させるなどの相互交流を企画しても良かったのではないかと考える。

他方、成果の一部は論文を米国側と共同執筆中とあり、報告書の成果⑤では受容体と G-protein の安定な複合体の形成を可能としたことが記載されており、今後の進展が期待される部分もある。タンパク質の結晶構造解析のうち、特に膜タンパク質の結晶化は極めて困難で、計画通りに進捗しない場合も多いことは十分理解可能であり、また本事業終了後も研究員が Kobilka 教授研究室に残って継続しているため、将来的には、世界水準の研究成果として花開くことは期待できる。日本側から構造認識抗体の作製を介して積極的にサポートしていることも評価できる。したがって、数年後にフォローアップを行えば、上位の評価となる可能性もある。

以上の所見から、本事業は論文発表など具体的な成果発表には至っていないものの、実際に M2 タンパク質の結晶構造解明を進めており、将来性も期待できるので、「当初設定された研究計画はある程度達成された」と評価したい。