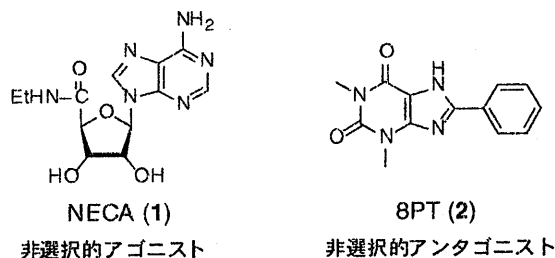


審査の結果の要旨

氏名 原 田 均

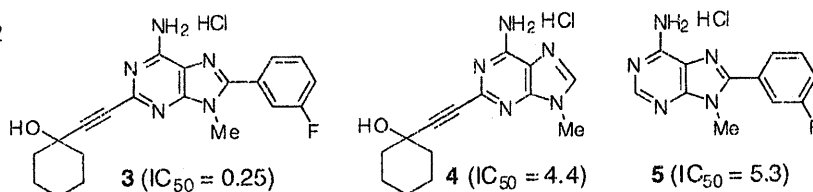
アデノシンの多彩な生理作用は、 A_1 、 A_{2A} 、 A_{2B} 、 A_3 の 4 つのサブタイプに分類されるレセプターを介して発現される。アデノシンと糖代謝の関係については、その肝臓からの糖放出作用が A_2 レセプターを介していることが報告されている。しかしながら、 A_{2A} 、 A_{2B} いずれのサブタイプなのかに関しては明らかにされていない。原田は予備検討の過程で、非選択的なアデノシンアゴニストである NECA (1) がラット初代培養肝細胞におけるグルコース産生を促進し、非選択的なアンタゴニストである 8-PT (2) がそれを抑制するという結果を得た (図 1)。以上の背景から、アデノシン A_2 拮抗作用に基づき肝臓からの糖放出を抑制する薬剤が開発できれば糖尿病治療に貢献できるものと考えられる。原田は新規な A_2 アンタゴニストの創出を目指して探索研究に着手し、2-アルキニル-8-アリアルアデニン骨格を有する新規なアデノシンアンタゴニストを見出した。また、アデノシンによるラットの肝臓からの糖放出およびアンタゴニストによる糖放出抑制作用がアデノシン A_{2B} レセプターサブタイプを介した作用であることを明らかにすること、および糖尿病病態動物における合成化合物の血糖降下作用を確認することにより、アデノシン A_{2B} 拮抗剤の新規糖尿病治療剤としての可能性を示唆するに至った。

図 1



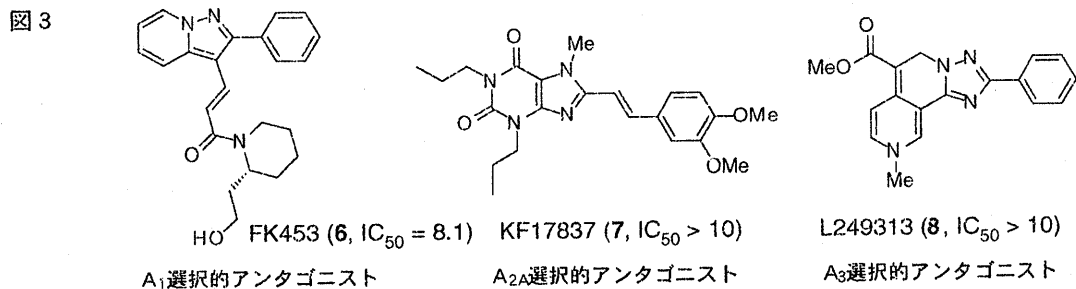
まず原田は、(1) 9-メチルアデニンが、弱いアデノシンアンタゴニストである、(2) A_2 アゴニストの探索において、アデニン環 2 位にアルキニル側鎖を導入することで、活性だけでなく A_2 選択性も向上する、(3) 予備検討の過程で薬効が確認された 8-PT が、プリン環 8 位にフェニル基を有しているといった報告および知見に着目し、2-アルキニル-8-アリアル-9-メチルアデニン骨格をデザインした。そして、本骨格のアデニン環 2 位アルキニル側鎖および 8 位芳香族側鎖の種々の合成展開を行った。原田は、一連の合成化合物の構造活性相関から、特に、アデニン環 8 位に芳香環、2 位にアルキニル側鎖を導入することで、活性が大きく上昇するという知見を得たことは注目に値する (化合物評価系として $0.1 \mu\text{M}$ の NECA によるグルコース産生能を 50% 阻害するのに必要な化合物濃度 (IC_{50} , μM) を指標にしている) (図 2)。

図 2

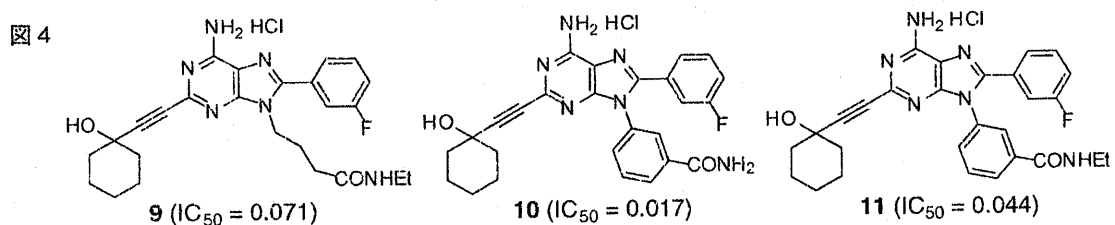


本研究の途上において、既存の選択的アデノシンアンタゴニスト (6、7、および 8) を肝細胞評価系を用いて評価したところ、いずれの化合物も、非選択的な 8-PT (2, $IC_{50} = 1.1$) に比べ、極め

て活性が低いことが明らかとなった(図3)。そこで原田は「肝細胞 *in vitro* の活性に関与しているのは、2つの A_2 サブタイプのうち特に A_{2B} サブタイプである」との仮説を立て、化合物探索の方向性を A_{2B} アンタゴニスト活性の上昇に絞った。

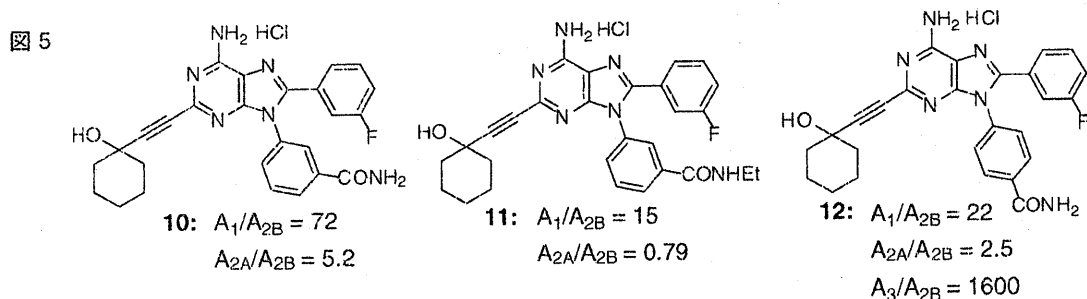


原田はアデニン環9位にアミド側鎖を有する NECA (1) が、既存のアデノシンアゴニストのうちで最強レベルの A_{2B} アゴニスト活性を有していることに着目し、 A_{2B} 拮抗作用を強める目的で2-アルキニル-8-アリールアデニン誘導体の9位にアミド側鎖導入を計画して、9、10、11、12などを合成した(図4)。その結果、9のようにアデニン環から3炭素分のリンカーを介する位置にアミド基を有することが活性の上昇に重要であることを見出し、次いで、アミド基をベンゼン環で固定した10および11でさらに活性が向上することを見出した。



一連の合成展開から得られた化合物が、実際にアデノシン A_{2B} 拮抗作用を有していることを確認する目的で原田は、ヒト A_{2B} レセプター過剰発現細胞における NECA 誘発 cAMP 産生に対する化合物の抑制作用を評価した。合成化合物は cAMP 産生を抑制し、その構造活性相関はラット肝細胞評価系において観察されたものによく一致していた。

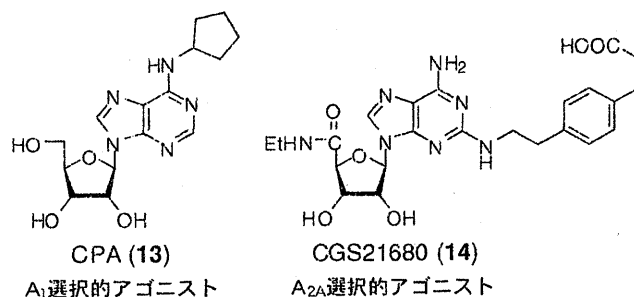
さらに原田は、化合物の A_{2B} サブタイプへの選択性を評価する目的で A_1 、 A_{2A} 、および A_3 の各レセプターサブタイプについて結合実験を行い、9位のアミド基をベンゼン環で固定した10、11、および12では、 A_{2B} 選択性の向上を見出した。特に、9-*m*-ベンズアミド誘導体(10)の A_1 、 A_{2A} に対する A_{2B} への選択性はそれぞれ72倍、5.2倍であり、本化合物は最も高い選択性を有していた(図5)。



ラット肝細胞におけるアゴニスト誘発糖放出促進作用に関与するレセプターサブタイプを特定する

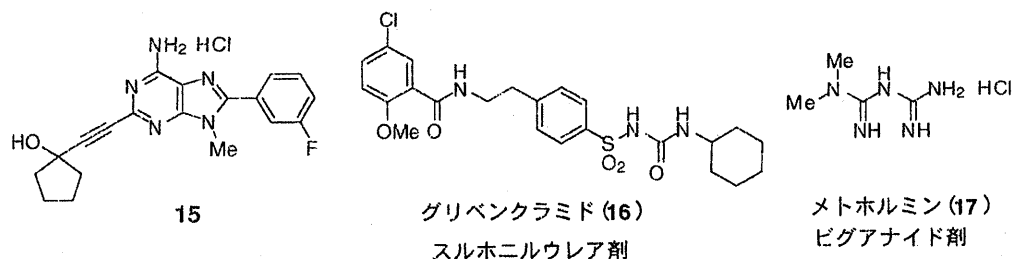
ため、各種アゴニストおよびアンタゴニストを用いて検討した結果、非選択的アデノシンアゴニストである NECA (1)、 A_1 選択的アゴニストである CPA (13)、および A_{2A} 選択的アゴニストである CGS21680 (14) の糖放出促進作用の強さの序列は、 $1 \gg 13 > 14$ の順であった。ここで得られた序列は、 A_{2B} レセプターを介する反応において既に報告されている序列と一致していた。次に、ラット肝細胞におけるアゴニスト刺激糖放出に対するアンタゴニストの抑制作用と、ヒト A_{2B} レセプター過剰発現細胞におけるアゴニスト刺激 cAMP 放出に対するアンタゴニストの抑制作用をプロットしたところ、両者の間に正の相関関係が得られることを見出した。それに対して、糖放出抑制作用は、 A_1 、 A_{2A} 、および A_3 レセプターに対する親和性のいずれとも相関しなかった。以上の検討結果から原田は、ラット培養肝細胞におけるアデノシンアゴニスト刺激糖放出作用、およびそれに対するアンタゴニストの抑制作用が、 A_{2B} サブタイプを介していると結論した。

図 6



アデノシン A_{2B} 拮抗剤の糖尿病治療剤としての有用性を検証する目的で原田は、合成化合物の中で良好な経口吸収性を有する化合物 15 について、遺伝的インスリン非依存型糖尿病モデル動物である KK- A^y マウスにおける血糖降下作用を調べるとともに、一般的な血糖降下剤と比較した。15 は、10 および 30 mg/kg の単回経口投与において、用量依存的でかつ有意な血糖降下作用を示した。また、15 は、スルホニルウレア剤 (16)、あるいはビッグアニド剤 (17) に比べてより強い薬効を示した。残念ながら、最も高い A_{2B} 選択性を示す 10 は経口吸収性が悪いため、薬効を確認するには至っていない。

図 7



以上、原田は 2-アルキニル-8-アリールアデニン骨格を有する新規なアデノシンアンタゴニストを発見し、本骨格の合成展開からアデノシン A_{2B} 拮抗作用および A_{2B} 選択性を指向した構造活性相関を見出した。また、ラットの肝臓からの糖放出に、4 つのアデノシンレセプターサブタイプのうち、特に A_{2B} サブタイプが関与していることを明らかにした。さらに、合成化合物のうちの一つが、遺伝的糖尿病モデル動物において血糖降下作用を有していることを示した。本研究の成果は、アデノシン A_{2B} 拮抗剤の新規糖尿病治療剤としての可能性を示唆する重要な知見になるものと考えられる。従って薬学研究に寄与するところ大であり、博士 (薬学) の学位を授与するに値すると認めた。