

審査の結果の要旨

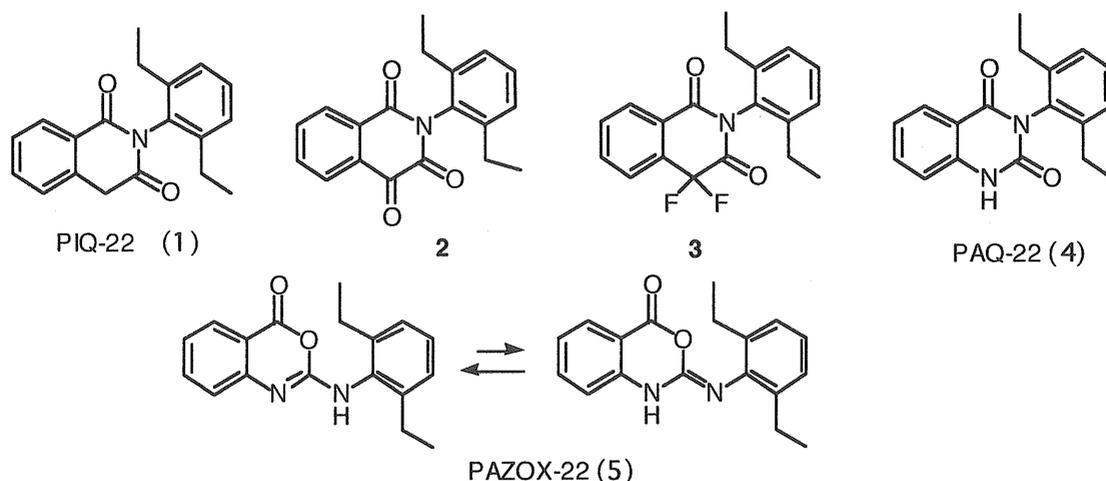
氏名 加来田 博 貴

ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ (PSA) は、初め、エンケファリン分解酵素の候補として見いだされた、脳や神経で高発現しているメタロプロテアーゼの一つである。がん転移において重要な役割を担うと考えられているアミノペプチダーゼN (APN) と同様な基質特異性を有する中性アミノペプチダーゼであることなどが知られているが、その生理的役割は未だ不明のままである。このため、PSA に対する特異的阻害剤の開発が、多くの研究者の間でも求められていた。

加来田博貴は、サリドマイドをリードとした構造展開研究によって得た強力ながん細胞浸潤阻害剤、PIQ-22 (1)、の標的分子が PSA であることに着目し、(1) PSA に特異的な阻害剤の開発研究、(2) 生細胞中 PSA の可視化プローブの開発・応用研究、(3) PSA 阻害剤のがん細胞浸潤阻害活性の評価研究を行った。

1. 特異的 PSA 阻害剤の開発研究

加来田は PIQ-22 (1) を用いての PSA の機能解明を目的とした研究の遂行中に、PIQ-22 (1) のベンジル位が極めて容易に自動酸化を受け、無活性なトリケト体 (2) となる現象を見だし、化学的に安定な PSA 阻害剤を創製すべく構造展開研究を行った。ジフルオロ体 (3) を初めとした数多くの誘導体を創製して構造活性相関研究を行い、独自に静電場の解釈を付与して、最終的に強力な特異的 PSA 阻害剤、PAQ-22 (4) 並びに PAZOX-22 (5)、の創製に至った。

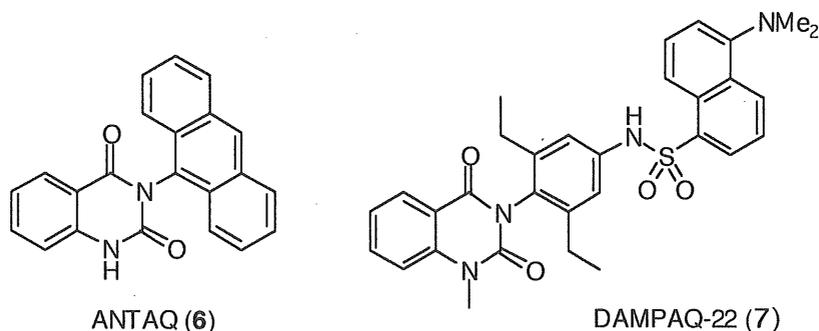


創製した PSA 阻害剤について酵素反応速度論的な解析を行い、PIQ-22 (1)、PAQ-22 (4)

及び PAZOX-22 (5) がいずれも PSA に対して同一の部位に結合する非競合的阻害剤であることを示した。

2. 生細胞中 PSA の可視化プローブの開発・応用研究

加来田は、自らが創製した PSA 阻害剤を PSA の生理機能解明のためのプローブとして応用するための一方策として、蛍光プローブへの展開研究を遂行した。PAQ-22 (4) が弱いながら蛍光を発することに着目し、独自に蛍光発色に関する分子論的な考察を施した上で、本分子自体を強力な蛍光体に転換しようとした。すなわち、PAQ-22 (4) の蛍光強度が弱いのは、その 2 位カルボニル基により 1 位アミノ基のキナゾリンジオン芳香環に対する電子供与性が低減されるためと考え、当該芳香環にアミノ基等の電子供与性基を導入することによって顕著な蛍光増強に成功した。しかし、創製した化合物群が生細胞中の PSA を可視化するために求められる物理的・化学的性質に欠けていたため、さらなる構造展開研究を遂行し、最終的に PAQ-22 (4) のジエチルフェニル基をアントラセンに置換した ANTAQ (6) 並びに、ジエチルフェニル基へダンシルアミノ基を導入した DAMPAQ-22 (7) の創製に至った。



これらの蛍光プローブの高い蛍光強度および PSA 特異的な阻害活性を確認した上で、ANTAQ (6) ないし DAMPAQ-22 (7) で処理した各種細胞の蛍光顕微鏡観察を行ない、これまで詳細が不明であった PSA の細胞内分布に関する知見を種々提供した。さらに、ANTAQ (6) や DAMPAQ-22 (7) の光親和性プローブへの展開も試みている。

3. がん細胞浸潤阻害活性の評価

加来田は創製した化合物のがん細胞浸潤阻害活性をマウスメラノーマ細胞 B16F10 を用いて評価した。その結果、強力な PSA 阻害剤がいずれも B16F10 に対して濃度依存的な細胞浸潤活性を有することを示し、PSA が新たながん細胞浸潤阻害剤開発の分子標的になり得ることを示した。加えて、PSA の配列中に細胞分裂装置である微小管に対する結合配列と相同性の高い配列が存在することなどから、PSA が細胞の運動性に関与する可能性を提案した。

以上、加来田博貴は、(1) 化学的に安定でかつ強力な特異的 PSA 阻害剤の創製に成功し、(2) 創製した化合物群の構造活性相関解析を行うことで、PSA を生細胞で可視化する蛍光プローブの開発にも成功した。今後これらの化合物を用いることにより PSA の分子生物学的な機能解明が図られるものと期待される。さらに (3) PSA 阻害剤が細胞浸潤阻害性を有することを示した。この結果と PSA 欠損マウスにおいて無痛症が見られることを含めて考えると、PSA 特異的阻害剤が細胞浸潤のみならず鎮痛作用をもったこれまでにない抗がん剤候補になりうる可能性が考えられ、医薬への応用も期待される。これらの成果は、博士（薬学）の学位論文として十分に価値があるものと認められる。