

審査結果の要旨

氏名 鈴木孝禎

鈴木孝禎は「合理的設計による新規ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬の創製」と題し、以下の研究をおこなった。

1. ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬における新規 zinc-binding group (ZBG) の探索

ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) は、ヒストン N 末端領域のアセチル化されたりシン残基からアセチル基を除去する反応を触媒することにより遺伝子発現を調節する重要な役割を担っている。また、HDAC 阻害薬は、in vivo で癌の増殖を抑えることから、新たな作用機序の抗癌剤として期待されている。既存の HDAC 阻害薬のほとんどは、スペロイルアニリドヒドロキサム酸 (SAHA) のようなヒドロキサム酸系化合物である。しかしながら、一般にヒドロキサム酸を有する化合物は体内動態が悪く、毒性の懸念も多い。それ故に、より体内動態の改善した抗癌剤、より副作用の少ない抗癌剤になり得る新たな HDAC 阻害薬の開発が望まれている。これまでに、製薬会社の化合物ライブラリーを基にした探索により、いくつかの非ヒドロキサム酸系 HDAC 阻害薬が見出されたが、それらの HDAC 阻害活性は、ヒドロキサム酸系化合物に遠く及ばない。新たな方法により、非ヒドロキサム酸系 HDAC 阻害薬を見出す必要がある。

これまでの HDAC 阻害薬の探索研究とは異なる効率的なアプローチとして、HDAC の構造的特徴や触媒メカニズムを考慮した合理的なドラッグデザインを行った。具体的には、(1) 酵素の静的状態である結晶構造を基に、二座配位型 ZBG を持つ化合物 (1~3)、一座配位型 ZBG を持つ化合物 (4~6)、不可逆的阻害を意図した化合物 (7~9) を設計し、(2) 酵素の動的状態である触媒反応を考慮し、ヘテロ原子含有基質アナログ (10~13)、遷移状態アナログ (14, 15) を設計した (Fig.1)。

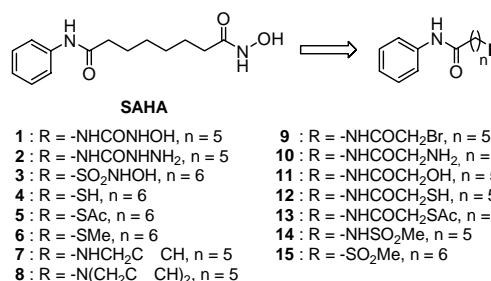


Figure 1

化合物 1~15 を合成し HDAC 阻害活性評価を行ったところ、Zn²⁺ の硫黄親和性の高さを考慮し一座配位型 ZBG を持つ化合物として分子設計したチオール 4、ヘテロ原子含有基質アナログとして分子設計したメルカプトアセトアミド 12 が、既知の非ヒドロキサム酸系 HDAC 阻害薬を大きく上回り、リード化合物である SAHA に匹敵する酵素阻害活性を示した (SAHA の IC₅₀ = 0.28 μM、4 の IC₅₀ = 0.21 μM、12 の IC₅₀ = 0.39 μM)。本研究で見出されたチオール及びメルカプトアセトアミドは、低分子 HDAC 阻害薬において、ヒドロキサム酸と同等の活性を示した初めての ZBG である。

つぎに、より活性の高いチオールを ZBG に固定し、linker 部位および cap 部位 (芳香環部位)

の構造活性相関を調べ、構造最適化を試みた結果、SAHA よりも強い HDAC 阻害活性を有する化合物 16~19 を見出した (Fig.2)

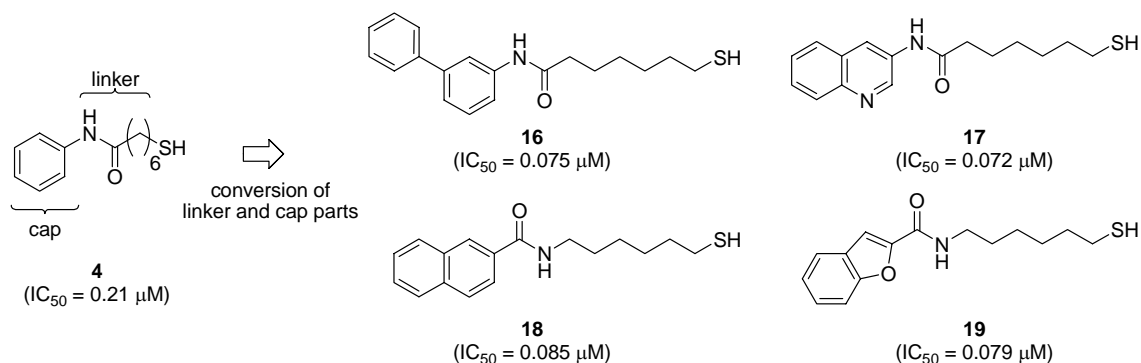


Figure 2

2. チオール系 HDAC 阻害薬の癌細胞増殖抑制評価

ヒドロキサム酸系HDAC阻害薬の生物活性として、抗癌作用がよく知られている。そこで、高いHDAC阻害活性を持つチオール 4 の癌細胞増殖抑制試験を行った。しかし、チオール 4 は、肺癌細胞であるNCI-H460 細胞に対し、弱い増殖抑制活性 (34% inhibition at 50 μM) しか示さなかった。この活性の弱さは、チオール 4 の低い細胞内移行性が原因であると考え、チオール 4 のプロドラッグ化の検討を行った。その結果、チオール 4 を*S*-イソブチリル化した化合物 20 が、 $EC_{50} = 20 \mu M$ で癌細胞増殖抑制活性を示した。この*S*-イソブチリル化体自身はHDAC阻害活性が弱いことから ($IC_{50} = 56 \mu M$) *S*-イソブチリル化体 20 は、チオール 4 に比べ効率的に細胞膜を透過し、細胞内で高いHDAC阻害活性を持つチオール 1 に変換されたものと考えられる。さらに、化合物 20 のベンゼン環を他の芳香環に変換したところ、3-ビフェニル 21、3-ピリジン 22、4-フェニル-2-チアゾール 23 に強い癌細胞増殖抑制作用が見られた ($EC_{50} = 2\sim 3 \mu M$, Fig.3)。特に化合物 23 は、9 種類の癌細胞を用いたマルチパネル評価で、現在、抗癌剤として臨床開発が行われているSAHAに匹敵する活性を示した (SAHAの平均 $EC_{50} = 3.7 \mu M$ 、23の平均 $EC_{50} = 3.8 \mu M$)。また、ウエスタンブロット解析の結果、化合物 23 による細胞内ヒストンの高アセチル化、p21 の誘導が確認され、これらの化合物による癌細胞増殖抑制作用は細胞内HDACを阻害した結果であると考えられた。

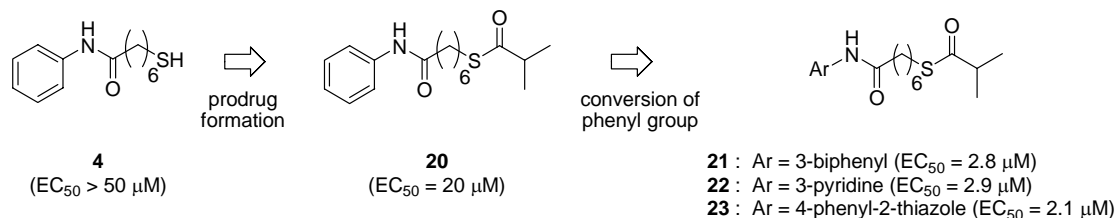


Figure 3

以上の業績は、薬学分野における医薬品化学の進歩に有意に貢献するものであり、博士 (薬学) の授与に値するものと考えられる。