

## 論文の内容の要旨

論文題目 サリドマイドの作用多様性と構造展開  
氏 名 谷内出 (野口) 友美

### 【序論】

当研究室では数年来、ケミカルジェネティクス、ひいては創薬のリード探索に有用な化合物群あるいはハイクオリティーなケミカルライブラリーの創製手法としてマルチテンプレート手法を提案してきた。本手法は、ヒトでは5万-7万種存在するとされるタンパク質も化学的性質等を見逃した3次元的な空間的形狀、すなわちフォールド構造は1000種ほどしかないとされていることに基盤をおいたものである。これに基づけば1000種のテンプレート構造があれば全てのタンパク質に特異的に結合する化合物が得られ、適当なテンプレート構造一つで、その構造展開により平均50-70種のタンパク質に対して特異的に結合する化合物が得られることになる。良質なテンプレート構造を抽出する方法の一つとして、その構造展開により各種の標的タンパク質に対する機能制御化合物へ拡張する方法が考えられる。この場合比較的単純な構造で多岐にわたる生物活性を示す化合物が良好なテンプレート候補になり得る。このような考えからサリドマイドをマルチテンプレートの候補として選択し、その有用性を実証すると共に、話題性が先行している感のあるサリドマイドの薬効に関して、これを構造展開によってその有用性を選択的に抽出すべく研究を展開した。

サリドマイドは催眠鎮静薬として開発されたが、深刻な催奇形性ゆえ市場撤退した薬物である。しかし近年本薬の優れた薬効が注目され、我が国において2008年に多発性骨髄腫の治療薬として再承認された。

注目されている一方で分子作用機序の理解は欠如している。報告されているサリドマイドの薬理作用としては、細胞分化誘導、血管新生阻害、がん細胞浸潤阻害、血糖降下作用等があり、これらはいずれも腫瘍壊死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )生産抑制作用によるものと言われていた。現在明確

なのは、サリドマイドの薬理作用の多くは、TNF- $\alpha$  生産抑制作用のみでは説明ができず、サリドマイドがマルチターゲットな薬物であるということである。私はサリドマイド及びその代謝物についていくつかの新たな生物作用を発見し、さらにシクロオキシゲナーゼ (COX)、チューブリン、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC)、一酸化窒素合成酵素 (NOS)、ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ (PSA)、 $\alpha$ -グルコシダーゼがサリドマイド作用のターゲットとなり得ることを示し、いくつかの構造展開物を創製した。

## 1章 分化誘導促進作用

### 1-1 チューブリン重合阻害剤への展開

サリドマイドはチトクローム P450 (CYP)による代謝や加水分解を受け 5-hydroxythalidomide (5-HT)、*N*-hydroxythalidomide (*N*-HT)等の代謝物を生成する。サリドマイドの薬理活性を論じるに際してはこれら代謝物の活性も無視できない。サリドマイドの抗腫瘍活性等から類推していくつかの生物活性について検索したところ、これらの化合物は生理濃度レベルのオールトランスレチノイン酸 (ATRA)が存在するとヒト前骨髄球性白血病細胞 HL-60 の分化を誘導することを発見した。このことからサリドマイドは生体内で分化誘導剤として機能していることが示唆された。

当研究室でチューブリン重合/脱重合阻害剤がヒト白血病細胞の分化誘導促進活性を有することが見出されている。そこで分化誘導促進活性を示したサリドマイド関連化合物のチューブリンに及ぼす影響を調べたところ、サリドマイドは活性を示さなかったが、上記代謝物は重合阻害活性を示した。このことからサリドマイドの抗腫瘍活性の少なくとも一部は代謝物によるチューブリン重合阻害活性で説明できる可能性が示された。さらに構造展開を施し、5HPP-33 というリゾキシシンと同等に強力なチューブリン重合阻害剤が創製できた。また 5HPP-33 がヒト骨髄腫細胞 IM9 に対してアポトーシスを誘導することを確認した。アポトーシスのメカニズムに関しては、caspase 3 を活性化していることが確認でき、本経路の寄与が示唆された。細胞周期的には G<sub>2</sub>/M 期での停止が認められた。さらなる構造展開により、大変強力なチューブリン重合阻害剤、5HFPP-33 を創製することができた。

### 1-2 HDAC 阻害剤への展開

分化誘導促進活性のメカニズムについては、*N*-HT が HDAC 阻害剤の主要なファルマコフォアとして知られるヒドロキサム酸構造を有することから、HDAC 阻害が少なくとも一部は関与していることを想定した。*N*-HT 自体は極めて弱い HDAC 阻害活性しか示さなかったが、サリドマイドをテンプレートとして構造展開することで、代表的な HDAC 阻害剤である vorinostat よりも強力な XIM-22 を創製することができた。創製した化合物の分化誘導促進活性について検討したところ、強力な HDAC 阻害活性を有した XIM-22、XP-12、XP-27 はいずれも濃度依存的に ATRA で誘導した HL-60 の分化を促進する活性を示した。

## 2章 血管新生阻害作用

### 2-1 COX 阻害剤への展開

さてサリドマイドの主要な薬理作用の一つに血管新生阻害作用がある。そこで、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞 HUVEC の *in vitro* 管腔形成系を選択して効果を検討した。サリドマイドおよ

び 5-HT に管腔形成阻害活性を確認できた。サリドマイドの抗炎症作用並びにこの血管新生阻害作用に関与する分子標的として COX を想定した。既にサリドマイドがリポポリサッカライドによる COX-2 の発現誘導をメッセージのレベルで阻害することは報告されていたが、COX に及ぼす直接的な影響については報告がなかった。私はサリドマイドが弱いながらも COX を直接阻害する活性を有することを発見した。サリドマイドの COX 阻害活性はサブタイプ選択性がほとんどなかったが、構造展開により強力な COX-1、COX-2 選択的阻害剤を取り揃えることができた。創製した強力な COX 阻害剤の血管新生阻害活性を調べたところ、AIB-0101 および AHIP-0101 に、期待通りの HUVEC における管腔形成阻害活性を確認することができた。

## 2-2 NOS 阻害剤への展開

血管新生阻害の考えられる他の分子標的として NOS を想定した。私はサリドマイドに弱いながら nNOS、iNOS 阻害活性を見出すことができた。またサリドマイドをテンプレートにした構造展開によりいくつかの強力な NOS 阻害剤を創製することができた。特に PIQ-11、PIQ-10、PIQ-20 は、生体内で産生される NOS 阻害物質であるモノメチル-L-アルギニンよりも強力な NOS 阻害活性を有していた。また、創製した NOS 阻害剤は、サリドマイドより強力な血管新生阻害活性 (HUVEC 管腔形成阻害)を示した。

## 3章 がん細胞浸潤阻害作用 -PSA 阻害剤への展開-

サリドマイドの抗腫瘍活性に関しては血管新生阻害と関連して、がんの転移に関わる細胞浸潤の阻害が提起されている。当研究室でもいくつかの化合物が細胞の形態や伸展運動に影響を及ぼすことを経験していた。観察した形態変化に関わる標的分子を探索したところ、PSA であることが分かった。そこで PSA 阻害剤への展開を図ることとした。サリドマイドをテンプレートとして PSA を阻害することで知られているベスタチンよりも強力な PSA 阻害剤、PAQ-22 を創製することができた。PSA については細胞内の局在が不明だったので、構造活性相関をもとに DAMPAQ 並びに ANTAQ という蛍光プローブをデザインした。これらの化合物は期待どおり活性並びに PSA 特異性を維持しており、生細胞内の PSA 分布を可視化して観察することができた。

## 4章 血糖降下・抗ウイルス作用

### 4-1 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤への展開

サリドマイドが血糖降下作用や抗ウイルス作用を有することから、サリドマイドを構造展開することで糖尿病やウイルス性肝炎等の治療薬が創製できると考えた。そこで、糖尿病の基礎研究において確立されている  $\alpha$ -グルコシダーゼに注目した。この阻害剤の中には抗ウイルス活性を示す化合物が報告されている。構造展開により、テトラクロロフタルイミド骨格を持つ競合阻害剤と非競合阻害剤を創製できた。

### 4-2 LXR アンタゴニストへの展開

核内受容体、肝臓 X 受容体 (LXR)がグルコースセンサーとしての役割を担っていることが報告された。この発見は、グルコースの誘導体が LXR のリガンドとして認識されることを示唆する。一方、我々はサリドマイドの構造展開研究から  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤を得ている。

これらの化合物のいくつかは競合阻害剤であり、従って同化合物群の構造の一部がグルコース疑似体として機能し得る可能性も期待した。そこでサリドマイド由来の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤が LXR リガンドになるのではないかと考え検証した。いくつかの化合物に LXR アンタゴニストとしての活性を見出し、それらの構造展開により高活性な LXR アンタゴニスト、5CPPSS-50 を創製することができた。

### 【総括】

以上私は、サリドマイドの不明な抗腫瘍活性の作用機序として、生体内で分化誘導剤として機能している可能性、代謝物が有糸分裂阻害剤として機能している可能性、を新たに提示し、サリドマイドの広汎な活性を説明し得る新たな標的分子として COX および NOS を、代謝物の標的分子として HDAC を見出した。また、サリドマイドを始原化合物としたマルチ創薬テンプレート手法に基づき強力なチューブリン重合阻害剤、HDAC 阻害剤、COX 阻害剤、NOS 阻害剤、PSA 阻害剤、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤、LXR アンタゴニストを創製した (Figure 1)。

本研究はサリドマイドの理解とその改良のための基盤データとして有用であり、より一般的な活性化合物創製手法の提案に直結したものと考えている。

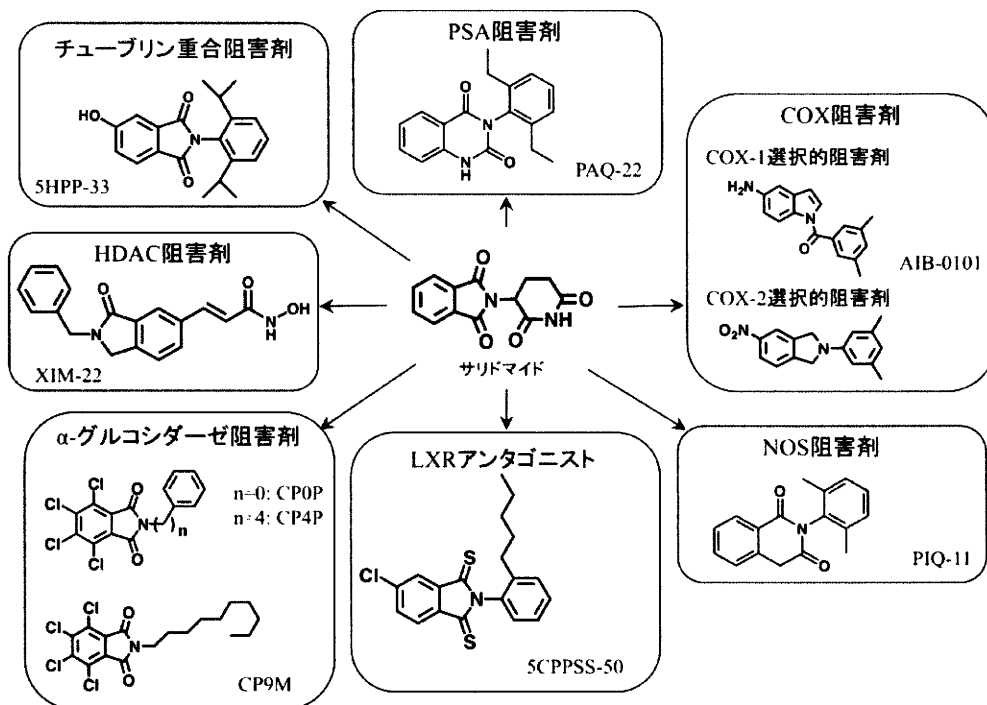


Figure 1. マルチテンプレートとしてのサリドマイド