

〔別紙2〕

審査の結果の要旨

氏名 谷内出(野口) 友美

谷内出が所属している研究室では数年来、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いる。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次元的な空間的構造、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。谷内出は、このような考えからサリドマイド(1)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(1)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(1)は注目されている一方で分子作用機序の理解が欠如している。谷内出は、サリドマイド(1)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)、 α -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(1)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, 2)、N-hydroxythalidomide (N-HT, 3)等の代謝物を生成する。サリドマイド(1)の薬理活性を論じる際にはこれら代謝物の活性も見逃できない。谷内出は、サリドマイド(1)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)存在下、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(1)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。

谷内出が所属している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。そこで谷内出は、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検討したところ、サリドマイド(1)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すことを発見した。このことからサリドマイド(1)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。さらに谷内出は、構造展開を施し、5HPP-33(4)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した。また5HPP-33(4)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 G₂/M 期での停止が認められた。さらなる構造展開により、強力なチューブリン重合阻害剤、5HFP-33(4)を創製した。

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 (3)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、谷内出は HDAC 阻害が少なくとも一部は関与していることを想定し、研究を展開した。*N*-HT (3)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 (1)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 (6)を創製した。ま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 (6)が濃度依存的に ATRA で誘導した HL-60 の分化を促進する活性を示すことを見出した。

2章 血管新生阻害作用

2-1 COX 阻害剤への展開

サリドマイド (1)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、谷内出は、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ところ、サリドマイド (1)および 5-HT (2)に管腔形成阻害活性を確認できた。続いて谷内出は、サリドマイド (1)の抗炎症作用並びにこの血管新生阻害作用に関与しうる分子標的として COX を想定した。既にサリドマイド (1)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。谷内出は、サリドマイド (1)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 (1)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評価し、AIB-0101 (7)に、谷内出の期待通りの HUVEC における管腔形成阻害活性を確認した。

2-2 NOS 阻害剤への展開

谷内出は、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、サリドマイド (1)に弱いながら nNOS、iNOS 阻害活性を見出した。またサリドマイド (1)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 阻害剤を創製した。特に PIQ-11 (8)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 阻害活性を見出した。また、創製した NOS 阻害剤は、サリドマイド (1)より強力な血管新生阻害活性 (HUVEC 管腔形成阻害)を示すことを確認した。

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 (1)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。谷内出が所属している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。そこで谷内出は、PSA 阻害剤への展開を図った。サリドマイド (1)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 (9)を創製した。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 (10)並びに ANTAQ (11)という蛍光プローブをデザインしたところ、これらの化合物は活性並びに 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に成功した。

4章 血糖降下・抗ウイルス作用

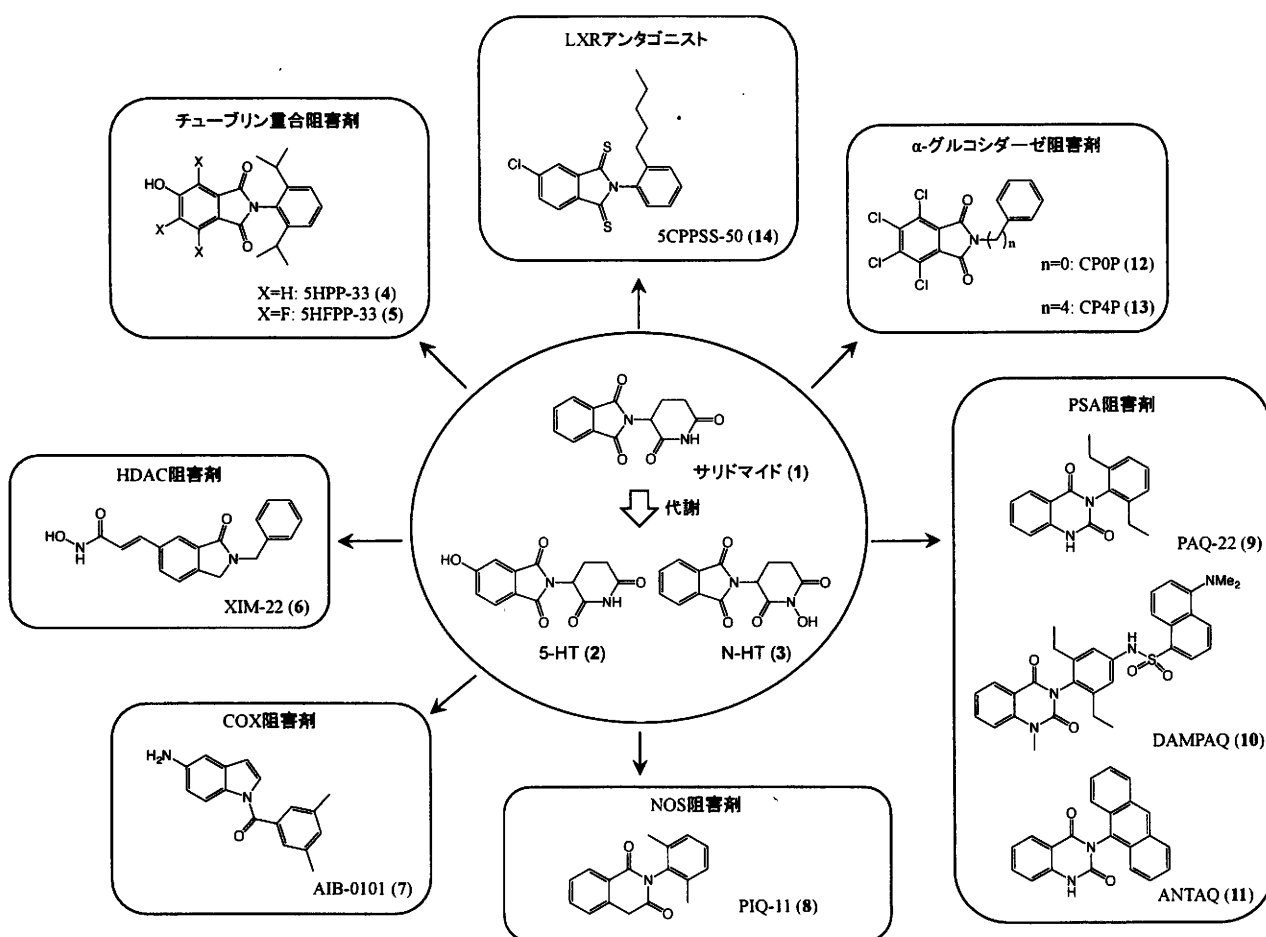
4-1 α -グルコシダーゼ阻害剤への展開

谷内出は、サリドマイド (1)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 (1)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 α -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非競合阻害剤 CP4P (12)と競合阻害剤 CP4P (13)を創製した。

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、谷内出はサリドマイド (1)の構造展開研究から α -グルコシダーゼ阻害剤を得ていた。これらの化合物のいくつかは競合阻害剤であり、従って谷内出は、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、サリドマイド由来の α -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 (14)を創製した。



以上、谷内出は、サリドマイド (1)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 (1)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 (1)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、 α -グルコシダーゼ阻害剤、LXR アンタゴニストを創製した。本研究はサリドマイド (1)の理解とその改良のための基盤データとして有用、かつ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であり、博士 (薬学) の学位を授与するに値すると判断した。