

審査の結果の要旨

氏名 丸山 慶輔

生命現象の本体とも言えるタンパク質に対して、機能解明や創薬のために、種々の化合物が創製されてきた。しかしヒトタンパク質の総数は5万~7万と見積もられており、これだけの数の低分子リガンドを網羅的に創出するためには大変な労力を要することが予想され、リード化合物の創出も容易ではない。一方、生体内の天然物リガンドに目を向けると、ステロイド化合物のように、共通骨格から派生したマルチターゲットな化合物が見られる。このような、ターゲットタンパク質の種類を超えたリガンド共通構造として機能しうるものを橋本研究室ではマルチテンプレートと呼称している。マルチテンプレートを用いた化合物創製は、一つの構造から構造展開することで様々な生理活性物質を創製出来るため、化合物ライブラリーの規模を抑えつつ、個々のタンパク質に対して独立に探索を行うよりも効率の良いリガンド展開が可能になると言える。橋本研究室ではこれまでに、サリドマイドをマルチテンプレートとした構造展開を行い、TNF- α 産生調節剤、DPP-IV阻害剤、ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ阻害剤等の化合物を創製してきた。また、初の非セコステロイド型ビタミンD受容体(VDR)リガンドであるLG190178のもつジフェニルメタン構造に着目して誘導体展開を行なう中で、ビタミンD受容体/アンドロゲン受容体(AR)デュアルリガンド(VDRアゴニスト/ARアンタゴニスト)(*R,S*)-DPP1023や、ファルネソイドX受容体(FXR)アゴニストDPPF-01などを創製することに成功している。

橋本研究室に所属する丸山慶輔は、ジフェニルメタン骨格の有用性を実験的に実証すること目的とした。具体的なタンパク質として、AR、エストロゲン受容体(ER)、またエビジェネティクスへの応用を試みてヒストンアセチル化酵素(HAT)の3つを選択し、これらの標的に対して、選択性の獲得をめざした。

具体的な内容は第2章から述べられる。第2章はARに対する展開の成果である。ARはtestosteroneや5 α -dihydrotestosteroneに代表されるアンドロゲンを内因性リガンドとする核内受容体である。アンドロゲンはARを介し、男性の二次性徴、筋肉や骨の形成といった重要な作用を発現している。一方で、ARのアンドロゲン依存的な転写活性化は前立腺がんの発症と進展にも深く関与していると考えられている。橋本研究室ではジフェニルメタン型VDR/ARデュアルリガンドの創製に成功していたものの、AR選択的アンタゴニストの創製は未だ達成されていなかった。(S,R)-LG190178とVDR、およびbicalutamide類縁体とARの複合体X線結晶構造が報告されている。両者を比較したところ、bicalutamideのフルオロベンゼンスルホニル基が、(S,R)-LG190178のt-ブチル基の位置に相当する部位に存在し、これらの官能基の脂溶性と嵩高さが抗アンドロゲン作用に大きな役割を果たしていることが示唆された。

そこで丸山は、(S,R)-LG190178 の *t*-ブチル基部分にさらなる置換基を導入することで抗アンドロゲン選択的なリガンドが創製できることを期待した。この様にしてデザインした化合物群を合成し、アンドロゲン依存的細胞増殖抑制活性と、ビタミン D 依存的細胞分化促進活性を評価した。その結果丸山は、ビタミン D 活性に対して約 30 倍の選択性を持ち、bicalutamide より強い抗アンドロゲン化合物を創出することに成功した (Figure 1.)。

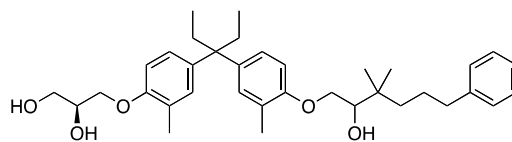


Figure 1.

第 3 章は ER に対する展開の成果である。ER は、ER α と ER β 、2 つのサブタイプを持ち、ステロイド骨格を有する estradiol (E₂, 17 β -estradiol) に代表されるエストロゲンを内因性リガンドとする核内受容体である。ER α は女性生殖器系に豊富に存在し、乳腺、視床下部、内皮細胞、血管平滑筋にも存在している。一方 ER β は前立腺、卵巣に豊富に存在し、肺、脳、血管、骨にも存在している。乳がん細胞の増殖はエストロゲン依存性であることが多く、特に ER α が関与している。このため、抗エストロゲン薬のタモキシフェンは乳がん組織等に存在する ER に競合的に結合し、抗エストロゲン作用を示すことによって抗腫瘍効果を発揮するとして臨床で用いられているが、サブタイプ選択性はさほど高くないため、今後の治療薬展開については ER α 選択的なアンタゴニストが求められると考えられる。

一般に環境ホルモン類として知られる化学物質に、ジフェニルメタン誘導体である bisphenol A があり、ポリカーボネート系プラスチックの原料として工業利用されている。Bisphenol A は ER アゴニストとして、またその類縁体は ER リガンドとして機能しうることが報告されているが、アゴニスト作用、アンタゴニスト作用に関する構造活性相関、あるいはその ER α 、ER β 選択性などは精査されていない。丸山は、bisphenol A は estradiol と同じ位置に結合し、ステロイド代替骨格として機能していると予想した。そうであれば研究室の過去の知見から、リガンドの嵩高さを調整すればアゴニスト・アンタゴニストの作り分けが可能と考えた。化合物群を新規に合成し活性評価したところ、中心部アルキル鎖を変換することで、アゴニストからアンタゴニストを作り分けることができた。また、ER α 選択的で IC₅₀ 値が 4.9 nM と強い活性を有する ER α アンタゴニストを得た (Figure 2.)。またドッキングスタディによる考察も行い、アンタゴニストとして作用していることを支持する結果を得た。このようにシンプルな構造展開においてもアゴニストからアンタゴニストへのスイッチ・活性増強・選択性獲得ができることを示した。

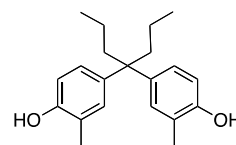


Figure 2.

第4章は、HAT 阻害剤に対する展開である。HAT は、アセチル CoA をドナーとしてアセチル基をヒストンのリジン残基に転移する酵素である。アセチル化されたヒストンは、リジン残基の正電荷が中和されること、またアセチル化部位を認識するブロモドメインを含むタンパク質によってその情報が読み取られることによって特定のクロマチン領域の目印として機能すると考えられている。一般に高度にアセチル化された領域は、活性クロマチンであると考えられている。ヌクレオソーム構造が緩みプロモーター領域に転写因子が接触しやすくなることにより、転写が活性化される。ER にエストロゲンが結合すると、HAT 活性をもつタンパク質複合体が結合して下流の遺伝子の転写が活性化される。丸山は HAT 活性を阻害できれば、エストロゲン依存性の転写を阻害し、乳がん細胞の増殖を抑制するケミカルツールのひとつとなる可能性があると考えた。

HAT 阻害剤としては **anacardic acid** や **curcumin** などが知られているが、合成リガンドの報告は少ない。近年、**curcumin** を構造展開した化合物に HAT 阻害活性が認められるという報告がある。これは橋本研究室で展開してきたジフェニルメタン型の構造に類似しており、丸山は構造展開によってジフェニルメタン骨格が HAT 阻害剤としても機能することを期待し、エピジェネティクスへの応用を試みた。種々化合物を合成して活性評価を行い、ジナフチル骨格をもつ HAT 阻害活性化合物を創出した。その中で、**anacardic acid** に迫る活性を持つ化合物も創出した (**Figure 3.**)。また多重薬理の観点からも考察し、創出した化合物が ER アンタゴニストとしての作用と HAT 阻害剤としての作用両面からの効果が期待できることを示唆した。これにより、エピジェネティクスへの展開として、ジフェニルメタン骨格が利用できる可能性も示した。

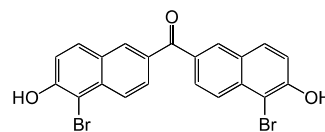


Figure 3.

以上、丸山は本研究において、3つのターゲットに対し、ステロイド代替骨格としてジフェニルメタン骨格を選択して研究を展開した結果、それぞれに対して活性を持つ化合物を創出した。その中には、既存化合物を上回る活性を示したものも含まれており、本手法の有用性と更なる性活性物質の創製に繋がると期待される。これらの成果は、博士（薬学）の学位授与に値すると判断される。