

氏 名	大 橋 知 洋		
学 位 の 種 類	博士 (理学)		
学 位 記 番 号	博乙第 50 号		
学位授与の日付	2016 年 3 月 11 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
学位論文の題目	Discovery of Novel Hedgehog Signaling Inhibitor		
論 文 審 査 委 員	主査	神奈川大学	教授 上 村 大 輔
	副査	神奈川大学	教授 加 部 義 夫
	副査	神奈川大学	教授 木 原 伸 浩
	副査	神奈川大学	教授 野 宮 健 司
	副査	神奈川大学	教授 山 口 和 夫

【論文内容の要旨】

多様ながん治療法が開発される中で、化学療法剤は利便性や経済性から相変わらず社会からの開発の要請が大きい。特に分子標的治療剤は、特定の標的分子に作用するため副作用の懸念が少ない点、経口剤としての開発が可能であるため患者の生活の質(QOL)向上に貢献できる点から多くの研究者が注目し、熾烈な開発競争が展開されている。中でもシグナル伝達系を作用機序とした分子標的治療剤は、いくつかの低分子薬を例にあげることができ関心が大きい。本論文は、がん5年生存率が特に低い膵臓がんにも適用可能なヘッジホッグシグナルの伝達活性化制御に着目した低分子阻害剤リードの開発研究内容を、有機合成化学に基づいて緻密に展開した結果を論述している。本論の前にヘッジホッグシグナル系の発見の経緯、ヘッジホッグシグナル伝達阻害による抗がん作用のメカニズム、現在開発されているヘッジホッグシグナルを標的とした低分子薬剤の紹介、ヘッジホッグシグナル系阻害がん治療薬の開発の必要性和その開発戦略を紹介している。

以下、各章ごとにその要旨を述べる。

第一章

ヘッジホッグシグナルは胎生期における臓器形成、細胞増殖および細胞分化に重要な因子として知られている。哺乳動物では、ソニックヘッジホッグ(Shh)、デザートヘッジホッグ(Dhh)およびインディアンヘッジホッグ(Ihh)の3種がシグナル伝達を引き起こすリガンドタンパク質として知られており、その中でも全身に発現が認められる Shh の研究が盛んに行われている。正常な成体組織では、パッチド(Ptch)と呼ばれる12回膜貫通型タンパク質が7回膜貫通型タンパク質であるスーズンド(Smo)の機能を制御し、本シグナル伝達は不活性化されている。近年、多くのがんにおいて、ヘッジホッグリガンド(HhL)の過剰発現や Ptch への変異によるヘッジホッグシグナル伝達の活性化が引き起こされることが報告されている。ここで、HhL が過剰発現すると、リガンドが Ptch に結合し Ptch の持つ機能を不活性化させる。従って Smo への機能制御がなくな

ることで **Smo** が活性化し、下流に存在する転写因子 **Gli** にシグナルが流れ、**Gli** が活性化する。これによりがん細胞に増殖シグナルおよび生存シグナルが伝達され、がん細胞が増殖する。このメカニズムは大腸がん、前立腺がん、膵臓がんなど多くのがん種で観測される。一方、**Ptch** に変異が加わるとその機能が失われるため、**HhL** が存在しなくても **Smo** が常時活性化する。この状態は先ほどと同様に、下流に存在する転写因子 **Gli** の活性化に伴うがん細胞増殖シグナルの亢進を引き起こす。このメカニズムは髄芽腫や基底細胞がんなどで観測される。

そこで本研究では、上記のヘッジホッグシグナル伝達系に着目した生物活性試験としてジンクフィンガー型 **Gli** 転写因子の活性阻害を選択し、ハイスループットスクリーニングによって候補化合物を選択した。その構造チエノ[3,2-*c*]キノリン-4-オン骨格に基づき、より一層の代謝安定性を目指した。分子中央部のチオフェンを *N*-メチルピロールに、またアミド側鎖はピペリジンに変え、さらにキノリン部に存在するフェナシル基が最も重要であるとも結論している。その結果、代謝安定性の高まった、新規化合物 **12b** の合成に成功した。本物質は膜タンパク質 **Smo** スムーズンドに対して強い結合を示し、これによって下流の **Gli** 転写因子の活性低下に繋がったと結論している。

また、本化合物が *in vivo* での抗腫瘍実験でも顕著な活性を示すとともに、体重減少もないことを確認している。

第二章

本章では、化合物 **12b** がマウス実験において高用量投与で血中動態が悪いことへの改善を目指している。構造活性相関を詳細に検討し、ピロロキノリン骨格における平面性の改善およびピロール環上のメトキシ基の変換による脂溶性の調節によって、溶解度改善を達成できると考察している。中央の環状キノリン骨格をエチルピリドン骨格に、またピロール環のメトキシ基をトリフルオロエチル基に変換した誘導体 **22d** を合成した。その結果、予想通り溶解度および **Gli** 転写因子の活性阻害は向上したことを述べている。

さらに本章では **22d** のさらなる構造活性相関の解析を行っている。分子の上方部分は X 線単結晶構造解析の結果からアルコキシ基の酸素原子と、アミド NH 結合間での水素結合および側鎖の回転阻害による固定化が活性発現向上に貢献していると結論している。化合物 **22d** の体内動態および *in vivo* の活性試験は極めて良好で、25 mg/kg の投与では、腫瘍の増殖をほぼ完全に抑制したと述べている。そのため、**22d** は経口投与可能なヘッジホッグシグナル阻害剤として開発可能な薬剤と確認している。

第三章

化合物 **22d** の上方部分（ピペリジンアミド部分）は固定して、ピリドン部分をピリミジン誘導体にしたものを設計し、その合成に成功している。本物質は母核ピリジン環のカルボニル基が消失しているにも関わらず、活性が弱くはなるものの活性が保持されていることに注目して、各種誘導体を合成した。X 線単結晶構造解析の結果をさらに考察し、下方部分のフェナシル基周辺の自由度が高いと活性発現に必要な立体配座を取り難いと結論し、フェナシル誘導体をベンズアミドに変えた誘導体 **25c** も設計、合成した。高度に多官能基化された *N*-メチルピロール環を有する各種誘導体合成は、対応する鍵中間体から共通の反応を用いることで効率的に行っている。また、ベンズアミド体の合成過程で、ピラジン環へのアミノ基の導入にはバックワルドアミノ化法をうまく利用している点に有機化学的な特徴がある。化合物 **25c** は期待通り、強い **Gli** 転写因子活性阻害を示した。その他の様々な芳香族アミド体について検討したが、構造活性相関研究では、

中央のヘテロ環とフェナシル基およびアミド側鎖とが形成する2面角が直行することが活性発現に重要と結論している。しかしながら、転写因子 Gli の mRNA の発現抑制は確かに弱くはなっているものの、血中動態が悪いことが指摘された。そのため、臨床試験候補化合物としては **22d** が最も妥当なリード化合物であると結論している。

続いて各章についてのまとめ、本論文の総括が記述されている。ここで、本論文に記述した開発戦略が今後の医薬品化学の発展に有用な知見となりえることを指摘している。引き続き実験の部が記載されている。41 ページから 88 ページにわたりスペクトルデータを含めた詳細な内容を含み、再現性のある実験内容と判断されることを指摘したい。最後に、今後化合物は臨床実験に進む可能性があり、結果に対する期待度が高いことも述べているが、成功を願いたい。

【論文審査の結果の要旨】

本論文は、ヘッジホッグシグナル系で重要な役割を演ずるジンクフィンガー型 Gli 転写因子の活性阻害を生物試験法として研究を進め、有機合成化学の粋を結集して開発した抗がん医薬リードの完成を述べている。ハイスループットスクリーニングで活性の顕著なチエノ[3,2-*c*]キノリン-4-オン骨格を選択し、体内代謝安定性の問題点を抽出し、化学的な構造解析を進めることによって、目的とする代謝安定物質を見出すことに成功した。本低分子化合物は、スムーズンド (Smo) と呼ばれる膜タンパク質へ結合し、その結果 Gli 転写因子を抑制することが明らかとなった。本化合物はマウス髄芽腫同種移植系モデルでの *in vivo* 試験で顕著な活性を示した。大量投与の際に問題となる体内動態を向上させる目的で、分子中央のキノリン環をピリジン環に変換させ溶解度の向上を図った。その際、分子内での水素結合に関与するメトキシ基の重要性を指摘し、最終的には詳細な分子設計を有機合成化学の立場で解析実現し、目的とした抗がん治療医薬リードの開発に成功した。今後、本研究で得た目的化合物を臨床試験へと発展させるが、本論文は有機化学的な構造活性相関、緻密な有機合成化学、分子設計における詳細な洞察力を示しており、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認められる。