

機関番号：12611  
 研究種目：若手研究（A）  
 研究期間：2007～2010  
 課題番号：19689004  
 研究課題名（和文） 核内受容体シグナル制御の医薬化学研究  
 研究課題名（英文） Regulation of Nuclear Receptor Functions  
 研究代表者 棚谷 綾（TANATANI AYA）  
 お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・准教授  
 研究者番号：40361654

研究成果の概要（和文）：核内受容体は、ステロイドホルモンや活性ビタミンの作用発現の標的蛋白質であり、リガンド依存的転写因子として、重要な生命現象を制御している。近年、種々の核内受容体が、がん、脳機能疾患、生活習慣病などの難治性疾患と密接に関与していることが明らかになってきた。本研究では、核内受容体を標的とした医薬リード創製を目的に、種々の核内受容体機能を制御する新規リガンド分子の創製を行った。

研究成果の概要（英文）：Nuclear receptors are ligand-inducible transcription factors, and regulate various biological phenomena, such as cell differentiation and proliferation, metabolism, and homeostasis. Nuclear receptors have been regarded as significant molecular targets for development of drugs for cancers, cardiovascular diseases, autoimmune diseases, and neurodegenerating diseases. In this study, I developed novel ligands for some nuclear receptors that have unique structures and biological functions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2008年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2009年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2010年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
総計	18,400,000	5,520,000	23,920,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：核内受容体、アンドロゲン、プロゲステロン、ビタミンD、アゴニスト、アンタゴニスト、蛍光性リガンド

#### 1. 研究開始当初の背景

現代の長寿社会においては、癌、脳機能疾患、生活習慣病などの慢性で内因性の疾患が「現代的難病」として取り残され、これらの発症の理解と予防・治療が重要課題のひとつである。核内受容体は、リガンド依存的転写因子であり、これらの難治性疾患と密接に関与していることが明らかになってきた。核内

受容体を分子標的とした医薬創製研究は既に確立した分野と思われがちであるが、例えば、アンドロゲンアンタゴニストによる前立腺癌治療においては、受容体遺伝子の突然変異によってアンタゴニストがアゴニストとして機能するという現象が起こり、薬剤耐性もしくは癌の増悪化の一因となっている。また、ビタミンDアンタゴニストにみられるよ

うな動物種特異性や、抗糖尿病薬ピオグリタゾン（核内受容体 PPAR のアゴニスト）のような人種差なども指摘されている。一方で、SERM（ Selective Estrogen Receptor Modulator）と総称されるエストロゲン誘導体のように、組織選択的な活性を有する各種核内受容体リガンドの創製が期待されている。すなわち、核内受容体の多彩な機能の特異的に制御する新規構造の開拓とその詳細な機能解明という基礎医薬化学研究の進展が望まれている。

## 2. 研究の目的

核内受容体の機能は単にリガンドとの結合親和性だけで決まらず、その結果起こる受容体のダイナミックな構造変化とそれに基づく各種転写因子間とのタンパク-タンパク相互作用様式によって決定される。本研究者は、核内受容体のリガンド依存的活性発現機構に関する分子、原子レベルでの考察から「核内受容体活性制御仮説」を提唱している。本仮説は、リガンド結合に伴う核内受容体の構造変化を利用して、その機能を制御するというものである。核内受容体は、リガンドの結合に伴って、Helix 12 と呼ばれる部分構造の折り畳み構造が変化する。この折り畳みこそが核内受容体と関連蛋白質群との相互作用を制御する鍵である。例えば、この仮説では、Helix 12 の折り畳み構造に着目して、アンタゴニストを（1）異なる立体構造を誘起する「非立体障害型」と（2）折り畳み自体を阻害する「立体障害型」の2群に分類できると考える。「非立体障害型」アンタゴニストでは、受容体の立体構造変化はわずかであり、その結果、細胞・組織特異的な作用を発揮しうると考えた。一方、「立体障害型」アンタゴニストは、折り畳み構造をとりえないため、フルアンタゴニストとなると予想できる。本研究では、本仮説の実験的検証と、それに基づく新規核内受容体リガンドを創製することにより、核内受容体を標的とした医薬リード創製を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では、「核内受容体活性制御仮説」を基盤として、新規構造及び特徴的な生物活性プロファイルを有する核内受容体リガンドを創製する。具体的には、以下の項目について、検討を行った。

（1）変異アンドロゲン受容体（AR）にも有効な AR アンタゴニストの創製

（2）新規プロゲステロン受容体（PR）リガンドの創製

（3）核内受容体研究のための蛍光性リガンドの開発

（4）非天然型の構造を有するビタミン D 誘導体の創製

## 4. 研究成果

（1）変異アンドロゲン受容体（AR）にも有効な AR アンタゴニストの創製： これまでの AR アンタゴニスト研究の知見をもとに、新規ピロールカルボキサミド誘導体を設計し、その構造活性相関を明らかとした。幾つかのピロールカルボキサミド誘導体は変異 AR を有する LNCap 細胞に対しても強い AR アンタゴニスト活性を示した。

ついで、AR を用いたバーチャルスクリーニングの結果を基に、新しい骨格を持つ AR アンタゴニストとして、フトラジノン誘導体（図 1）を設計、合成した。これらの化合物が AR アンタゴニスト活性を持つことを明らかとした。

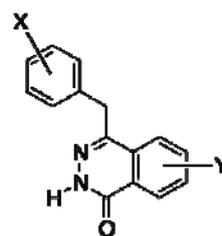


図 1 フトラジノン誘導体の一般式

（2）新規プロゲステロン受容体（PR）リガンドの創製： AR 研究およびサリドマイドをリード化合物とした生理活性物質研究での知見をもとに、非ステロイド型プロゲステロン（PR）アンタゴニストとして、ホモフタルイミドを基本骨格とした化合物を設計、合成した。アルカリフォスファターゼアッセイ及び PR を用いたレポーターアッセイ系を構築し、これらのアッセイ系で生物活性評価を行ったところ、 $IC_{50}$  が数 10 nM オーダーという強力な PR アンタゴニストを見いだした。

（3）核内受容体研究のための蛍光性リガンドの開発： 核内受容体の詳細な機能を解析する上で、特異的な蛍光性リガンドの開発は非常に有用である。蛍光団としてクマリン構造を選択し、クマリン骨格を有する核内受容体リガンドの創製を行った。特に、ステロイド構造をクマリン環が模倣することを想定し、プロゲステロンを標的として分子設計を行った。その結果、6-フェニルクマリン-3-カルボン酸誘導体にプロゲステロンアンタゴニスト活性を見いだした。さらに、3位のカルボキシル基の有無、6位の芳香環上の置換基を変えた化合物群（図 2 左）を合成し、構造活性相関を明らかとした。これらのクマリン誘導体の蛍光特性を検討した結果、溶媒依存的に蛍光強度が著しく変化する化合物を見いだした。また、本化合物が PR 結合に伴って蛍光強度が変化することも明らかとし

た。これらの結果はクマリン誘導体がプロゲステロンの詳細な作用機序解明もしくはリガンド探索のスクリーニングのための蛍光性ツールとして有用であることを示している。

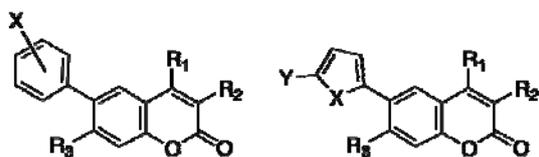


図2 クマリン骨格を有するPRアンタゴニストの一般式

更に、図2左の一般式をもつPRアンタゴニストの構造を展開することにより、より高活性なアンタゴニストを探索した。合成した化合物のうち、クマリン環6位にピロロールやチオフェンなどの5員環の芳香族複素環を導入した化合物(図2右、X = NMe、S)に高い活性が認められた。本化合物はERやARには結合せず、PR特異的アンタゴニストであることを確認した。

(4) 非天然型の構造を有するビタミンD誘導体の創製：天然のビタミンD類縁体やこれまで開発されてきた合成ビタミン誘導体はほとんどすべて、セコステロイド構造を有している。そこで、非セコステロイド構造の新規ビタミンD誘導体の開発を行った。まず、脂溶性ファーマコフォアとしてホウ素クラスターであるカルボランを用いて分子設計を行った。カルボランがセコステロイドのCD環を代替すると考え、p-カルボランの2つの炭素上に、水酸化アルキル基を導入した化合物を設計、合成した。その結果、天然の活性型ビタミンDと同程度の活性をもつ化合物をみいだした。これらの活性は、ビタミンD受容体(VDR)との結合親和性とよく相関することから、VDRを介して発揮されると考えられる。さらに、本化合物とVDRリガンド結合部位との共結晶を得た。この結晶構造を解析し、カルボラン誘導体とVDRとの結合様式を明らかとした。

次に、ビタミンD受容体に結合することが知られているリトコール酸をリード化合物とした構造展開を行った。リトコール酸とVDRリガンド結合部位の共結晶の構造解析をもとに、まず、リトコール酸の3位置換基の効果を明らかとした。次に、リトコール酸の側鎖に着目し、カルボキシル基を置換アミドに変えた誘導体及び2つの水酸基を持つアルキル鎖に変えた化合物を設計し、その合成法を確立した。これらの生物活性については、詳細な検討が進行中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

- (1) Katagiri, K.; Furuyama, T.; Masu, H.; Kato, T.; Matsumura, M.; Uchiyama, M.; Tanatani, A.; Tominaga, M.; Kagechika, H.; Yamaguchi, K.; Azumaya, I. Calix[3]amide-based anion receptors: High affinity for fluoride ions and twisted binding model. *Supramolecular Chemistry* 2011, 23, 125-130. 査読有
- (2) Kakuta, H.; Azumaya, I.; Masu, H.; Matsumura, M.; Yamaguchi, K.; Kagechika, H.; Tanatani, A. Cyclic-tri(N-methyl-meta-benzamide)s: Substituent Effect on the Bowl-shaped Conformation in the Crystal and Solution States. *Tetrahedron* 2010, 66, 8254-8260. 査読有
- (3) Kudo, M.; Hanashima, T.; Muranaka, A.; Sato, H.; Uchiyama, M.; Azumaya, I.; Hirano, T.; Kagechika, H.; Tanatani, A. Identification of Absolute Helical Structures of Aromatic Multilayered Oligo(m-phenylurea)s in Solution. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 8154-8163. 査読有
- (4) Mikami, K.; Tanatani, A.; Yokoyama, A.; Yokozawa, T. Helical Folding of Poly(naphthalenecarboxamide) Prompted by Solvophobic Effect. *Macromolecules* 2009, 42, 3849-3851. 査読有
- (5) Hirano, T.; Osaki, T.; Fujii, S.; Komatsu, D.; Azumaya, I.; Tanatani, A.; Kagechika, H. Fluorescent visualization of the conformational change of aromatic amide or urea induced by N-methylation. *Tetrahedron Lett.* 2009, 50, 488-491. 査読有
- (6) Wakabayashi, K.; Imai, K.; Miyachi, H.; Hashimoto, Y.; Tanatani, A. 4-(Anilino)pyrrole-2-carboxamides: Novel non-steroidal/non-anilide type androgen antagonists effective upon human prostate tumor LNCaP cells with mutated nuclear androgen receptor. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 6799-6812. 査読有
- (7) Okamoto, I.; Yamasaki, R.; Sawamura, M.; Kato, T.; Nagayama, N.; Takeya, T.; Tamura, O.; Masu, H.; Azumaya, I.; Yamaguchi, K.; Kagechika, H.; Tanatani, A. Redox-Induced Conformational Alteration of N, N-Diarylamides. *Org. Lett.* 2007, 9, 5545-5547. 査読有

〔学会発表〕(計29件)

- (1) 井上和美、藤井晋也、森修一、影近弘之、棚谷綾「フトラジノン骨格を有する新規アンドロゲン受容体アンタゴニストの創製」第131回日本薬学会年会、2011年3月28日、静岡。
- (2) 金井美紗衣、平野智也、榊飛雄真、片桐幸輔、東屋功、影近弘之、棚谷綾「環境応答型アミドの特性を基盤とした蛍光センサー分子の開発」日本化学会第91春季年会、2011年3月26日、横浜。
- (3) 岡本巖、高橋優介、澤村美香、森田延嘉、田村修、榊飛雄真、東屋功、影近弘之、松村実生、棚谷綾「酸化還元による環境応答を利用したN,N-ジアリール型芳香族アミドの立体構造変換と機能発現」第36回反応と合成の進歩シンポジウム、2010年11月1日、名古屋。
- (4) 金井美紗衣、棚谷綾、平野智也、影近弘之、榊飛雄真、東屋功「環境応答型アミドの構造特性を利用した蛍光センサー分子の開発」第36回反応と合成の進歩シンポジウム、2010年11月1日、名古屋。
- (5) 棚谷綾「非セコステロイド型VDRリガンドおよび非ステロイド型PRリガンドの創製」第6回VD3研究会、2010年6月18日、東京。
- (6) Tanatani, A.; Sakai, H.; Mori, S.; Fujii, S.; Hirano, T.; Kagechika, H. Development of Novel Progesterone Antagonists Bearing A 6-Arylcoumarin Skeleton. ICE2010 Official Satellite Symposium - Nuclear Receptor and its Frontier, 2010年3月31日、京都。
- (7) 関根良太、藤井晋也、増野弘幸、平野智也、河内恵美子、棚谷綾、影近弘之「カルボランを基盤としたチオエーテル構造を有する新規VDRリガンドの創製」第130回日本薬学会年会、2010年3月28日、岡山。
- (8) 数井優子、増野弘幸、藤井晋也、平野智也、河内恵美子、影近弘之、棚谷綾「6-アリールクマリン環を母核とした新規プロゲステロンアンタゴニストの創製」第130回日本薬学会年会、2010年3月28日、岡山。
- (9) 酒井悠、平野智也、森修一、藤井晋也、影近弘之、棚谷綾「ビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体の創製」第130回日本薬学会年会、2010年3月28日、岡山。
- (10) 藤井晋也、加納敦、平野智也、河内恵美子、増野弘幸、棚谷綾、中林誠、伊倉貞吉、伊藤暢聡、清水正人、影近弘之「カルボランを疎水性骨格とする新規非セコステロイド型VDRリガンドの構造展開」第35回反応と合成の進歩シンポジウム、2009年11月16日、金沢。
- (11) Fujii, S.; Kano, A.; Sekine, R.; Kawachi, E.; Masuno, H.; Hirano, T.; Tanatani, A.; Kagechika, H. Development of Novel Non-secosteroidal Vitamin D Receptor Ligands Based on Carborane as A Hydrophobic Core Structure. 14th Vitamin D Workshop, 2009年10月4日、ベルギー。
- (12) 藤井晋也、加納敦、平野智也、河内恵美子、増野弘幸、棚谷綾、中林誠、伊倉貞吉、伊藤暢聡、清水正人、影近弘之「新規非セコステロイド型VDRリガンドの構造展開と受容体結合様式の解析」日本ビタミン学会第61回大会、2009年5月30日、京都。
- (13) 平野智也、大崎隆、藤井晋也、小松大輔、東屋功、棚谷綾、影近弘之「蛍光センサー開発を志向した芳香族アミド、ウレア立体構造変化の可視化」日本化学会第89春季年会、2009年3月27日、千葉。
- (14) 酒井悠、平野智也、藤井晋也、影近弘之、棚谷綾「プロゲステロン活性を有する新規クマリン誘導体の創製」第27回メデイシナルケミストリーシンポジウム、2008年11月26日、大阪。
- (15) 増野弘幸、藤井晋也、加納敦、平野智也、河内恵美子、棚谷綾、中林誠、伊倉貞吉、伊藤暢聡、清水正人、影近弘之「セコステロイド骨格を持たないビタミンD受容体リガンドの開発」日本レチノイド研究会第19回学術集会、2008年11月21日、東京。
- (16) Masuno, H.; Fujii, S.; Kano, A.; Hirano, T.; Kawachi, E.; Tanatani, A.; Nakabayashi, M.; Ikura, T.; Ito, N.; Shimizu, M.; Kagechika, H. Novel VDR agonists bearing carborane: Synthesis, biological activity and VDR binding structure. CBI Annual Meeting, 2008年10月22日、東京。
- (17) Kagechika, H.; Kano, A.; Fujii, S.; Hirano, T.; Kawachi, E.; Tanatani, A. Novel non-seco-steroidal VDR ligands bearing a carborane as a hydrophobic pharmacophore. XIII IMEBORON, 2008年9月21日、スペイン。
- (18) 影近弘之、遠藤泰之、棚谷綾「カルボラン含有ビタミンD誘導体の創製とVDR結合様式」第320回脂溶性ビタミン総合研究委員会、2008年7月18日、大阪。
- (19) 藤井晋也、加納敦、平野智也、河内恵美子、増野弘幸、棚谷綾、中林誠、伊倉貞吉、伊藤暢聡、清水正人、影近弘之「カルボランを疎水性ファーマコフォアとする新規 non-seco 型 VDR リガンドの創

製と受容体結合様式の解析」日本ケミカルバイオロジー研究会第3回年会、2008年5月19日、東京。

- (20) 酒井悠、平野智也、藤井晋也、広元健一、中川亜弥、橋本祐一、影近弘之、棚谷綾「6-アリールクマリンをスキヤフォールドとした新規プロゲステロン誘導体の創製」日本薬学会第128年会、2008年3月26日、横浜。
- (21) 中川亜弥、棚谷綾、深澤弘志、宮地弘幸、橋本祐一「ホモフタルイミドをスキヤフォールドとした新規プロゲステロン受容体アンタゴニストの創製」日本薬学会第128年会、2008年3月26日、横浜。
- (22) 加納敦、埤田善之、平野智也、藤井晋也、河内恵美子、棚谷綾、影近弘之「カルボラン含有新規ビタミンD誘導体の創製」第25回メディシナルケミストリーシンポジウム、2007年11月28日、相模大野。
- (23) 佐藤伸一、青山洋史、棚谷綾、内藤幹彦、宮地弘幸、橋本祐一「cIAP1 減少を介した新規アポトーシス誘導剤創製研究」第25回メディシナルケミストリーシンポジウム、2007年11月28日、相模大野。
- (24) 中川亜弥、棚谷綾、深澤弘志、宮地弘幸、橋本祐一「ホモフタルイミド構造を基盤とした新規プロゲステロン受容体アンタゴニストの創製」第25回メディシナルケミストリーシンポジウム、2007年11月28日、相模大野。
- (25) 棚谷綾「新規非-seco-ステロイド型新規ビタミンD誘導体-VDR、ARデュアルリガンドの創製-」第317回脂溶性ビタミン総合研究委員会、2007年9月7日、東京。
- (26) Nakagawa, A.; Tanatani, A.; Miyachi, H.; Hashimoto, Y. Novel Nonsteroidal Progesterone Receptor Antagonists Derived from Thalidomide. The 6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, 2007年7月8日、トルコ。
- (27) Kagechika, H.; Yaguchi, K.; Songkram, C.; Sun, G.; Hirano, T.; Tanatani, A.; Endo, Y. Development of Novel non-seco-Steroidal Vitamin D Derivatives. The 6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, 2007年7月8日、トルコ。
- (28) Hosoda, S.; Tanatani, A.; Kainuma, M.; Makishima, M.; Miyachi, H.; Hashimoto, Y. Design and Synthesis of Diphenylpentane (DPP) Derivatives as Steroid Skeleton Substitutes. The 6th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, 2007年7月8日、トルコ。
- (29) 棚谷綾「非-seco-ステロイド型新規ビタミンD誘導体：VDR、ARデュアルリガン

ドの創製」第3回VD3研究会、2007年6月5日、東京。

〔図書〕(計5件)

- (1) 棚谷綾「芳香族アミドの立体特性と動的立体制御—機能性芳香族化合物構築の鍵構造として—」生命化学研究レター 2010 February (No. 32), 21-26.
- (2) Okamoto, I.; Kagechika, H.; Tanatani, A. External Stimulus-Responsive Control of Aromatic Amide Conformations. J. Synth. Org. Chem., Jpn 2009, 67, 1240-1249.
- (3) 棚谷綾、影近弘之「フォルダマー」In 超分子サイエンス&テクノロジー (監修：国武豊喜、NTS出版)、2009, 467-476.
- (4) Kagechika, H.; Tanatani, A. Nuclear Receptor Drug Discovery In 'Gene Family Based Molecular Design' Edited by Karen Lackey. Wiley-Interscience, 2008, 275-316.
- (5) 棚谷綾「核内受容体の構造制御と機能」化学工業社 2007 (5), 360-365.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称：PRアンタゴニスト活性を有するクマリン誘導体

発明者：棚谷綾、酒井悠、影近弘之、平野智也

権利者：お茶の水女子大学、東京医科歯科大学

種類：

番号：特願 2010-43034

出願年月日：平成 22 年 2 月 26 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

棚谷綾 (TANATANI AYA)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・准教授

研究者番号：40361654

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し