

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2012

課題番号：21790107

研究課題名（和文） サリドマイド及びその誘導体が関与する情報伝達系の解析

研究課題名（英文） Multi-functionality and structure development of thalidomide

研究代表者

谷内出 友美 (YACHIDE TOMOMI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・技術職員

研究者番号：20401284

研究成果の概要（和文）：サリドマイドおよび代謝物の薬理作用に関わる諸要因の現象的・分子作用レベル的解析、同生物作用を指標とした医薬化学的な構造展開研究・構造活性相関解析、ならびに創製し薬理活性が認められたサリドマイド誘導体の各現象に関わる情報伝達系の解析を遂行した。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化合物創薬手法の提案に直結したものであると考えている。

研究成果の概要（英文）：I investigated the molecular mechanism of action of thalidomide and its metabolites, and cell signaling of biologically active derivatives of thalidomide. In addition, some biologically active compounds, such as nuclear receptor agonists/antagonists and enzyme inhibitors, have been created by structural development of thalidomide and its derivatives. Based on these studies, I proved that thalidomide is useful as a novel multi-template for development of various kinds of biologically active compounds.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

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：ケミカルバイオロジー

1. 研究開始当初の背景

サリドマイドは 1962 年に催奇形性ゆえ市場撤退した催眠鎮静薬だが、近年多発性骨髄腫治療薬として再び脚光を浴びている。我が国においては、2005 年に希少疾病用医薬品として指定され、2008 年に再発または難治性の多発性骨髄腫の治療薬として製造販売

を承認された。しかし、注目される一方で、その分子作用機序の理解は欠如している。サリドマイドの薬効の分子基盤を解明することが出来れば、催奇形性の心配がないニューサリドマイドへの誘導体化の道が拓けるなど、その意義は社会的要請の観点からも大きいと考えている。

本研究者はこれまで、**サリドマイドの生物学的な作用機構研究**として、(a)サリドマイドのシクロオキシゲナーゼ (COX) 阻害作用の発見、(b)サリドマイドの主要な代謝物のチューブリン重合阻害作用の発見、(c)サリドマイドならびにその主要な代謝物の HL-60 培養細胞に対する分化誘導促進活性の発見等の成果を上げ、さらに、**医薬化学的な構造展開研究**として、(d) 新規ホモフタルイミド型 NOS 阻害剤の創製、(e) 新規フタルイミド型 COX 阻害剤の創製、(f) 新規フタルイミド型細胞分化誘導剤の創製ならびに分化細胞の細胞生物学的解析、(g) 血管新生阻害剤の創製、(h) 新規フタルイミド型チューブリン重合阻害剤の創製、(i) TNF- α 産生調節剤の創製、(j) サリドマイド誘導 α -グルコシダーゼ阻害剤の Liver X Receptor (LXR) アンタゴニストへの展開をはじめとする成果を上げてきた。これまでの研究は、話題が先行し十分な学術根拠が欠如していたサリドマイドの薬理作用に対する理解を大きく進めるものであると考えている。

2. 研究の目的

本研究課題では、近年再び注目されているサリドマイドを始原化合物に設定し、以下の研究を遂行することを目的とした。

- I これまで本研究者が創製し薬理活性が認められたサリドマイド誘導体について、それらの各現象がいかなる情報伝達系に作用するものであるか、詳細なメカニズムについて解析し明確にすること。さらに標的タンパク質の構造的・機能的解明研究に拡張すること。**(サリドマイド誘導体に関する情報伝達系の解析)**。
- II 欠如していたサリドマイドの分子作用機序について学術的に明確な基盤を付与すること。**(サリドマイドの生物学的な作用機構研究)**。
- III 同生物作用を医薬化学的な構造展開研究によって選択的に抽出することによって新たな生物活性応答調整剤を創製すること。これを行うことによってその捉え方ならびにその有用性を実験的に実証しようとするものである。延長線上にある最終到達目標は、サリドマイドの薬効を催奇形性の問題を排除しつつ再現・再構築すること。**(サリドマイドの医薬化学的な構造展開研究)**。

以上の研究を遂行することにより、様々な問題を抱えるサリドマイドの今後の改良研究に明確な方向性と学術基盤を付与することを目的とした。

3. 研究の方法

I サリドマイド誘導体に関する情報伝達系の解析および**II サリドマイドの生物学的な作用機構研究**

サリドマイドは再び脚光を浴びている一方で、その分子作用機序の理解は未だ欠如している。また、本研究者及び本研究者が所属する研究室ではサリドマイドをマルチテンプレートとして構造展開、活性評価、構造活性相関研究を遂行し、数多くの薬理活性を有するサリドマイド誘導体を創製してきた。しかし、その中には詳細な情報伝達系の解析が欠如している化合物も少なくない。そこで、分子生物学的な手法に加えて有機化学的な手法も駆使し、生体内分子の機能や反応を分子レベルから扱うケミカルバイオロジーの手法を用いて解析することで、サリドマイドおよびその誘導体に関する学術的に明確な基盤を付与したいと考えた。具体的な研究計画として、以下の項目について網羅的に情報を蓄積・整理することとした。

- a) プロテインノックダウン法 (タンパク質分解機構のユビキチン-プロテアソーム系を利用した標的タンパク質の選択的な分解誘導法) を用い、サリドマイドおよびその誘導体に関するタンパク質の解析のためのタンパク質分解誘導剤を設計、合成し、標的タンパク質解析のための足掛かりを築いた。
- b) 血管新生阻害活性を有するサリドマイド及びその代謝物、誘導体について、それらの薬理活性に関わる情報伝達系の解析をした。具体的には、血管新生誘導因子 (血管内皮細胞増殖因子(VEGF)など) や受容体型チロシンキナーゼへの影響を解析した。
- c) 細胞増殖抑制活性を有するサリドマイド誘導体について、細胞死に関する因子、例えばカスパーゼ、NF κ B、ポリ (ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)、への影響を解析した。
- d) 抗糖尿病および抗メタボリックシンドローム活性を有するサリドマイド及びその代謝物、誘導体の薬理活性に関わる情報伝達系の解析。具体的にはグリコーゲンホスホリラーゼ、ナトリウム依存性グルコース共輸送体(SGLT)への影響を検討した。
- e) 以上の研究で集積した諸要因の解析データを十分に踏まえた上で、続いて、活性拡張研究により創製された生理活性化合物の作用機構研究を継続した。具体的には transrepression 選択的肝臓X受容体

(LXR) リガンドやビタミンD受容体 (VDR) との相互作用を阻害するLXXLLペプチド等価体、polo-likeキナーゼ (PLK1) 阻害剤を創製し、その分子機構研究を遂行した。

III サリドマイドの医薬化学的な構造展開研究

既に、細胞分化誘導促進活性、細胞分化誘導活性、チューブリン重合阻害活性、COX阻害活性、血管新生阻害活性、NOS阻害活性についてプレリミナリーな構造展開を行い、各々の活性について、新規のフタルイミド型活性化合物が得られている。構造活性相関についても初歩的な解答を得ているので、それを基に、既存のフタルイミド化合物ライブラリーから代表的な化合物について活性評価を行い、構造活性相関の確認を行う。その上で、より優れた活性化合物を設計し合成することとした。

また、これらの研究と平行して、同時に特にファルマコフォア骨格のフタルイミド骨格からの逸脱にも焦点を当てた研究を遂行した。具体的には、ホモフタルイミド骨格やイソインドロン骨格、インドール骨格、ヒダントイン骨格を候補に挙げた。続けて、細胞レベルの検定系で優れた化合物を選別し、そのプロドラッグ化や誘導体化による安定性の向上を図ることとした。

以上、本研究計画の作業仮説構築のベースになっている事象は、本研究者が独自に発見したものであり、その経験を十分に生かして順調に進行させられると考えた。

4. 研究成果

サリドマイドおよび代謝物の薬理作用に関わる諸要因の現象的・分子作用レベル的解析、同生物作用を指標とした医薬化学的な構造展開研究・構造活性相関解析、ならびに創製し薬理活性が認められたサリドマイド誘導体の各現象に関わる情報伝達系の解析を遂行した。

具体的には以下の通りである。

- 1) タンパク質分解機構のエピキチン-プロテアソーム系を利用した標的タンパク質の選択的な分解誘導法であるプロテインノックダウン法を用いて、サリドマイド誘導体が関与するタンパク質の解析のためのタンパク質分解誘導剤を設計、合成した。
- 2) 血管新生阻害活性を有するサリドマイド及びその代謝物、誘導体の薬理活性に関わる情報伝達系の解析。具体的には受容体型チロシンキナーゼへの影響を検討した。

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。いくつかのサリドマイド関連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であることが分かり、PSA阻害剤への展開を図った。

- 3) サリドマイド誘導体の構造展開に基づくリガンドの創製 [ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ (PSA) リガンドの創製]、構造展開、構造活性相関研究並びに解析

また、サリドマイドが血糖降下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等の治療薬が創製できると考え、対象疾患として糖尿病およびメタボリックシンドロームを選択し、以下四項目の研究を遂行した。

- 4) サリドマイド関連化合物の構造展開に基づく核内受容体リガンドの創製[肝臓X受容体(LXR)、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体(PPAR)、エストロゲン受容体(ER)リガンドの創製]、構造展開、構造活性相関研究ならびに解析
- 5) 活性拡張研究に基づくリガンドの創製 [transrepression選択的肝臓X受容体(LXR) リガンドの創製]、構造展開、構造活性相関ならびに作用機構研究
- 6) α -グルコシダーゼ阻害活性、LXRアンタゴニスト活性およびグリコーゲンホスホリラーゼ阻害活性を有するサリドマイド誘導体における活性の作用分離
- 7) 抗糖尿病および抗メタボリックシンドローム活性を有するサリドマイド及びその代謝物、誘導体の薬理活性に関わる情報伝達系の解析。具体的にはグリコーゲンホスホリラーゼ、ナトリウム依存性グルコース共輸送体(SGLT)への影響の検討

続いて、活性拡張研究として、他の核内受容体や核内受容体と相互作用するタンパク質への影響を検討した。以下二項目。

- 8) サリドマイドおよび誘導体、サリドマイド関連化合物の構造展開および活性拡張研究に基づく核内受容体リガンドの創製 [芳香族炭化水素受容体(AhR)、ビタミンD受容体(VDR)リガンドの創製]、構造展開、構造活性相関研究ならびに解析
- 9) ビタミンD受容体 (VDR) との相互作用を阻害するLXXLLペプチド等価体、

polo-likeキナーゼ (PLK1) 阻害剤の創製、構造展開、構造活性相関ならびに作用機構研究

さらに、ファルマコフォア骨格のフタルイミド骨格からの逸脱に焦点を当てた研究としては、以下二項目を遂行した。

- 10) サリドマイド類縁ヒダントイン誘導体のCa²⁺誘導ミトコンドリア膜透過性遷移 (MPT) 活性の評価、構造展開、構造活性相関ならびに解析
- 11) 環状イミドを有するサリドマイド類縁ヒダントイン誘導体の細胞増殖阻害活性、分化誘導促進活性、血管新生阻害活性およびそれらのシクロオキシゲナーゼ阻害活性の評価ならびに解析

これらの研究を通して、サリドマイドの有効性・有用性に対する細胞生物学的・分子作用機構的な理解を進歩させることができた。また各種構造展開研究の遂行により、サリドマイドを始原化合物としたマルチ創薬プレート手法 (マルチ創薬プレート手法とは、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の一つ。) の有用性を実証し、この研究がより一般的な活性化化合物創薬手法の提案に直結したものであると考えている。さらにサリドマイド派生化合物群という新たな医薬リードカテゴリーを発信することができた。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- Yusuke Mita, Kosuke Dodo, Tomomi Noguchi-Yachide, Yuichi Hashimoto and Minoru Ishikawa.
Structure-activity relationship of benzodiazepine derivatives as LXXLL peptide mimetics that inhibit the interaction of vitamin D receptor with coactivators.
Bioorg. Med. Chem. 21, 993-1005 (2013). 査読有り
- Yusuke Mita, Tomomi Noguchi-Yachide, Minoru Ishikawa and Yuichi Hashimoto. Small-molecular, non-peptide, non-ATP-competitive polo-like kinase 1 (Plk1) inhibitors with a terphenyl skeleton.
Bioorg. Med. Chem. 21, 608-617 (2013). 査読有り
- Yotaro Matsumoto, Tomomi Noguchi-Yachide, Masaharu Nakamura, Yusuke Mita, Akiyoshi Numadate, and Yuichi Hashimoto. Specific Inhibitors of Puromycin-Sensitive Aminopeptidase with a 3-(Halogenated Phenyl)-2,4(1H,3H)-quinazolinedione Skeleton.
Heterocycles, 86, 1449-1463 (2012). 査読有り
- Shunpei Murasawa, Katsuya Iuchi, Shinichi Sato, Tomomi Noguchi-Yachide, Mikiko Sodeoka, Tsutomu Yokomatsu, Kosuke Dodo, Yuichi Hashimoto, Y. and Hiroshi Aoyama. Small-molecular inhibitors of Ca²⁺-induced mitochondrial permeability transition (MPT) derived from muscle relaxant dantrolene.
Bioorg. Med. Chem. 20, 6384-6393 (2012). 査読有り
- Atsushi Aoyama, Kaori Endo-Umeda, Kenji Kishida, Kenji Ohgane, Tomomi Noguchi-Yachide, Hiroshi Aoyama, Minoru Ishikawa, Hiroyuki Miyachi, Makoto Makishima and Yuichi Hashimoto. Design, synthesis, and biological evaluation of novel transrepression-selective liver X receptor (LXR) ligands with 5,11-dihydro-5-methyl-11-methylene-6Hdibenz[b,e]azepin-6-one skeleton.
J. Med. Chem. 55, 7360-7377 (2012). 査読有り
- Tomomi Noguchi-Yachide, Kazuyuki Sugita and Yuichi Hashimoto. Estrogen receptor α/β ligands derived from thalidomide.
Heterocycles, 83 (9), 2137-2147 (2011). 査読有り
- Kazunori Motoshima, Tomomi Noguchi-Yachide, Minoru Ishikawa, Yuichi Hashimoto, and Kazuyuki Sugita. Further Application of the Multi-Template Approach for Creation of Biological Response Modifiers:

Discovery of a New Class of Multifunctional Anti-Diabetic Agents. *Heterocycles*, 82 (2), 1083-1101 (2011). 査読有り

- Keisuke Maruyama, **Tomomi Noguchi-Yachide**, Kazuyuki Sugita, Yuichi Hashimoto and Minoru Ishikawa.
Novel Selective Anti-androgens with a Diphenylpentane Skeleton. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20, 6661-6666 (2010). 査読有り
- Yusuke Mita, Kosuke Dodo, **Tomomi Noguchi-Yachide**, Hiroyuki Miyachi, Makoto Makishima, Yuichi Hashimoto and Minoru Ishikawa.
LXXLL peptide mimetics as inhibitors of the interaction of vitamin D receptor with coactivators. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20, 1712-1717 (2010). 査読有り
- Yuji Fujita, Mitsuhiro Yonehara, Masashi Tetsuhashi, **Tomomi Noguchi-Yachide**, Yuichi Hashimoto and Minoru Ishikawa.
b-Naphthoflavone analogs as potent and soluble aryl hydrocarbon receptor agonists: Improvement of solubility by disruption of molecular planarity. *Bioorg. Med. Chem.*, 18, 1194-1203 (2010). 査読有り
- Kazunori Motoshima, **Tomomi Noguchi-Yachide**, Kazuyuki Sugita, Yuichi Hashimoto and Minoru Ishikawa.
Separation of α -glucosidase-inhibitory and liver X receptor-antagonistic activities of phenethylphenyl phthalimide analogs and generation of LXR-selective antagonists. *Bioorg. Med. Chem.*, 17, 5001-5014 (2009). 査読有り
- **Tomomi Noguchi-Yachide**, Masashi Tetsuhashi, Hiroshi Aoyama and Yuichi Hashimoto.
Enhancement of Chemically-induced HL-60 Cell Differentiation by 3,3'-Diindolylmethane (DIM) Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.*, 57(5), 536-540 (2009). 査読有り

[学会発表] (計 21 件)

- 青山惇、梅田 (遠藤) 香織、岸田健治、大金賢司、**谷内出 (野口) 友美**、青山洋史、石川稔、宮地弘幸、榎島 誠、橋本 祐一
免疫調節作用選択的な肝臓 X 受容体 (LXR) リガンドの創製
日本レチノイド研究会第 23 回学術集会 (鳥取県米子市)2012 年 10 月 19 日
- **谷内出友美**、松本洋太郎、杉田和幸、橋本祐一
サリドマイド由来エストロゲン受容体リガンドの創製
日本薬学会 132 年会 (北海道札幌市) 2012 年 3 月 28-31 日
- 青山惇、梅田 (遠藤) 香織、**谷内出 (野口) 友美**、石川稔、宮地弘幸、榎島誠、橋本祐一
Liver X Receptor (LXR) リガンドの構造展開によるTransrepression 作用選択的リガンドの創製
日本薬学会 132 年会 (北海道札幌市) 2012 年 3 月 28-31 日
- 村澤慎平、青山洋史、どど孝介、**谷内出友美**、橋本祐一
虚血性細胞死抑制活性を有する低分子化合物の創製
日本薬学会 132 年会 (北海道札幌市) 2012 年 3 月 28-31 日
- 三田裕介、どど孝介、**谷内出友美**、橋本祐一、石川稔
LXXLL 配列を模倣した VDR-コアクチベーター相互作用阻害物質の構造活性相関
日本薬学会 132 年会 (北海道札幌市) 2012 年 3 月 28-31 日
- M. Ishikawa, Y. Fujita, J. Kasuga, M. Yonehara, **T. Noguchi-Ychide**, H. Miyachi and Y. Hashimoto
Improvement in aqueous solubility of biocyclic molecules by disruption of molecular planarity and symmetry
AIMECS11, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium "Frontier of Medicinal Science" (Tokyo) 2011.11.29 -12.2
- Y. Mita, K. Dodo, **T. Noguchi-Yachide**, H. Miyachi and Y. Hashimoto.

- LXXLL peptide mimetics as inhibitors of the interaction of vitamin D receptor with coactivators.
AIMECS11, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium
“Frontier of Medicinal Science” (Tokyo)
2011.11.29 -12.2
- K. Sugita, K. Motoshima, **T. Noguchi-Yachide**, M. Ishikawa and Y. Hashimoto.
Further application of the multi-template approach for creation of biologically active compounds: discovery of a new class of multifunctional anti-diabetic agents.
AIMECS11, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium
“Frontier of Medicinal Science” (Tokyo)
2011.11.29 -12.2
 - 青山惇、遠藤香織、**谷内出友美**、青山洋史、石川稔、槇島誠、宮地弘幸、橋本祐一
LXR依存的なTransrepression作用選択的リガンドの創製
日本薬学会第131年会（静岡）2011年3月28-31日
 - 丸山慶輔、**谷内出友美**、杉田和幸、橋本祐一、石川稔
ジフェニルペンタン骨格を有する選択的抗アンドロゲン物質の創製研究
日本薬学会第131年会（静岡）2011年3月28-31日
 - A. Aoyama, **T. Yachide**, H. Aoyama, M. Ishikawa, M. Makishima, H. Miyachi and Y. Hashimoto
Design, synthesis and evaluation of transrepression-selective ligands, bearing anti-inflammatory activity mediated by LXR.
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Hawaii, 2010.12.15-20)
 - Y. Fujita, M. Yonehara, M. Tetsuhashi, **T. Noguchi-Yachide**, Y. Hashimoto and M. Ishikawa
 β -Naphthoflavone analogs as potent and soluble aryl hydrocarbon receptor agonists: Improvement of solubility by disruption of molecular planarity.
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Hawaii, 2010.12.15-20)
 - K. Maruyama, M. Ishikawa, **T. Noguchi-Yachide** and Y. Hashimoto
Selective anti-androgens with a 3,3-diphenylpentane skeleton .
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Hawaii, 2010.12.15-20)
 - Y. Mita, K. Dodo, **T. Noguchi-Yachide**, H. Miyachi, Y. Hashimoto and M. Ishikawa
LXXLL peptide mimetics as inhibitors of the interaction of vitamin D receptor with coactivators.
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Hawaii, 2010.12.15-20)
 - 藤田優史、米原光弘、鉄橋正士、**谷内出友美**、橋本祐一、石川稔
難溶性を改善した AhR リガンドの創製
第29回メディシナルケミストリーシンポジウム（京都テレサ）2010年11月17-19日
 - 三田裕介、どど孝介、**谷内出友美**、宮地弘幸、橋本祐一、石川稔
LXXLL 配列を模倣したビタミン D 受容体-コアクチベーター相互作用阻害物質の創製-
第29回メディシナルケミストリーシンポジウム（京都テレサ）2010年11月17-19日
 - 青山惇、**谷内出友美**、青山洋史、石川稔、槇島誠、宮地弘幸、橋本祐一
LXR を介した抗炎症作用を有する選択的リガンドの創製
日本薬学会第130年会（岡山）2010年3月28-30日
 - 三田裕介、どど孝介、**谷内出友美**、宮地弘幸、橋本祐一、石川稔
LXXLL 配列を模倣した核内受容体-コアクチベーター阻害物質の創製
日本薬学会第130年会（岡山）2010年3月28-30日
 - 藤田優史、米原光弘、鉄橋正士、**谷内出友美**、橋本祐一、石川稔
難溶性を改善した AhR リガンドの創製
日本薬学会第130年会（岡山）2010年3月28-30日

- 山口淳一、谷内出友美、坂口由佳、柴田千秋、橋本祐一
環状イミドを有するヒダントイン類の合成と活性評価
第28回メディシナルケミストリーシンポジウム (東京大学) 2009年11月25-27日
- 本島和典、石川稔、谷内出友美、杉田和幸、橋本祐一
サリドマイド誘導体における α -glucosidase と LXR 活性の作用分離、および glycogen phosphorylase 阻害活性
第28回メディシナルケミストリーシンポジウム (東京大学) 2009年11月25-27日

[その他]

ホームページ等

東京大学 分子細胞生物学研究所

生体有機化学研究分野

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/chem/IMCB-8ken-HP/Index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

谷内出 友美 (YACHIDE TOMOMI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・技術職員

研究者番号：20401284

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：