

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32613

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460149

研究課題名(和文) IDO阻害剤の実践的創薬展開による革新的抗がん剤創製の基盤構築

研究課題名(英文) Research on IDO inhibitor as anticancer agent

研究代表者

松野 研司 (MATSUNO, KENJI)

工学院大学・先進工学部・教授

研究者番号：50433214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：IDO阻害剤のリード化合物取得を目的とした誘導体デザイン・合成・評価を実施した。その結果、いずれの化合物も活性増強もしくは物性向上させることに成功した。また細胞系におけるIDO阻害活性評価系を構築・評価し、期待通り細胞系でIDO阻害活性を示す化合物を複数見出した。当初目標値を上回るIDO阻害活性を示す化合物を多数見出したことから、本化合物を用いたin vivo薬理評価を実施した。その結果、用量依存的な薬理活性が認められ、一連の化合物の中で初めてin vivo活性を示す化合物を見出すことに成功した(特許・論文投稿予定)。  
以上、3年間の研究期間においてIDO阻害剤のリード化合物候補を取得できた。

研究成果の概要(英文)：The design, synthesis and biological evaluations for our original IDO inhibitors were conducted. We succeeded enhancement of IDO enzyme inhibition, as well as cellular IDO inhibition. As the result of our efforts, many potent analogues were identified. Furthermore, all potent IDO inhibitors demonstrated in vivo efficacy. The activity would be attributed to IDO inhibition since inactive IDO inhibitor did NOT show the in vivo activity.

研究分野：医薬化学

キーワード：リード化合物 抗がん剤 がん免疫療法剤 IDO 免疫寛容 構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

健康長寿国を目指す我が国にとって、死因の第1位を占める『がん』に対する新たな新薬開発は急務である。近年、分子標的薬と呼ばれるカテゴリーの抗がん剤が開発されているものの、いわゆる細胞増殖阻害剤の域を出ず、いまだに重篤な副作用回避が課題であることから、全く新しいコンセプトに基づく薬物治療体系の開拓が不可欠である。

がん細胞は、生体にとって異物であるにもかかわらず、ヒトに本来備わっている免疫監視機構が働かず、排除されない状況(免疫寛容)となっている。最近になり、IDOがその原因と考えられるようになってきた(*Curr. Cancer Drug Targets*, **2009**, 9, 938)。したがってIDO阻害剤は、免疫寛容機構を破綻させ、生体本来の免疫力によってがん細胞を排除する、革新的な抗がん剤となりうる。

IDOはヘム鉄を有する酸素添加酵素の一種であり、トリプトファンがキヌレニンに異化される経路の律速段階を司る酵素である。がん病変部位においては、がん細胞に過剰発現しているIDOによるトリプトファン枯渇・キヌレニン濃度上昇のため、NK細胞等が不活性化され、免疫寛容を惹起している(図1)。

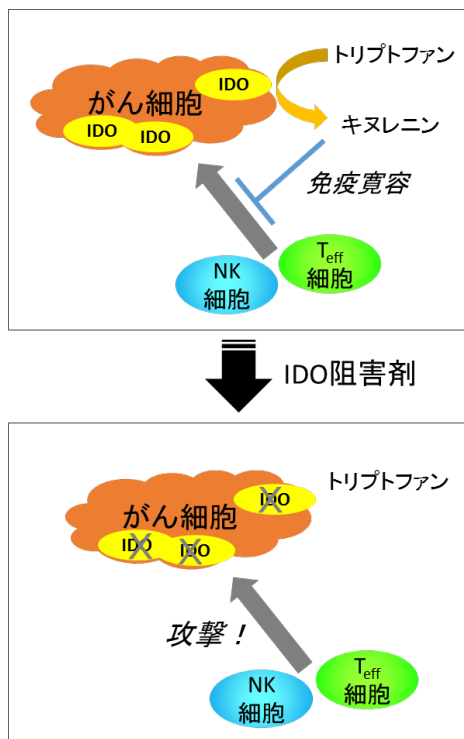


図1. 本研究のコンセプト

既にIDO阻害剤としては数種類の化合物が報告されており(*Expert Opin. Ther. Pat.* **20**, 229, 2010)、1-メチルトリプトファンのように臨床試験が実施されている化合物も存在するが、IDO阻害活性が弱く( $IC_{50}=276\mu M$ )、明確な抗がん活性は報告されていない。このため、免疫寛容解除に基づいた新規がん薬物治療体系を開拓するため

には、強活性なIDO阻害剤の創製が必須である。

2. 研究の目的

Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)は、がん細胞が宿主の免疫監視機構を回避(免疫寛容)する原因であることから、その阻害剤は生体本来の免疫力を向上させ、がん細胞を排除可能と考えられる。このような免疫寛容解除に基づく抗がん剤は皆無であり、IDO阻害剤の研究開発は、既存の抗がん剤とは全く異なる薬物治療体系を提供することが期待される。

既に申請者は、複数のケモタイプを有する化合物に比較的強いIDO阻害活性が認められることを見出している(松野研司、他、*MedChemComm*, **2012**, 3, 475-479 および *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 5126-5129 など)。本研究は、申請者がIDO阻害剤として見出した化合物から、*in silico*モデリングを活用した創薬化学研究によりリード化合物を創製し、『革新的抗がん剤の開発』の化学基盤を構築することを目的とする(図2)。

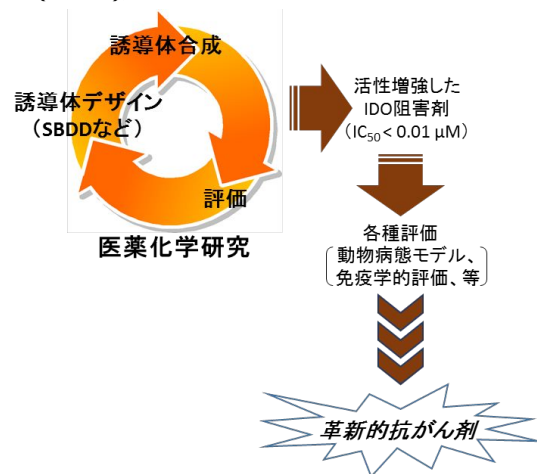


図2. 本研究の概要と目標

3. 研究の方法

『革新的抗がん剤の開発』および『免疫寛容解除に基づく新規薬物治療体系の開拓』の化学基盤を構築するべく、以下の方法によりIDO阻害剤のリード化合物を創製する。

(1) 申請者が見出したIDO阻害剤の強活性化を図る。同時に、各化合物の阻害モードを解明した上で*in silico*ドッキングモデル等を作成し、誘導体デザインに反映させる。

(2) 上記*in silico*モデルを活用して、異なるケモタイプを1つの分子に統合(merging)した化合物デザインを実施し、リード候補( $IC_{50}<0.1\mu M$ )を取得する。

(3) 上記リード候補に対し、リード化合物としての適格性を評価する。設定した基準に未達の場合は、合成展開による解決を図ることで、リード化合物を取得する。

#### 4. 研究成果

申請時に見出していた IDO 阻害剤 (1-3) の強活性化を目的とした誘導体デザイン、合成および評価を実施した。誘導体設計においては、docking model の構築に成功し、これを活用した。

その結果、いずれの化合物も活性増強もしくは物性向上させることに成功した。

このうち、高水溶性であることから細胞や *in vivo* での評価が困難であることが懸念されたベンジルイソチオウレア誘導体 1 の構造変換においては、適度な脂溶性が確保された複素環化合物 (ベンゾイミダゾールなど) を多数取得することができた。また置換基 R<sub>1</sub> & R<sub>2</sub> の効果を検討し、置換基の種類により活性が大きく変動することが明らかになった (図 3)。

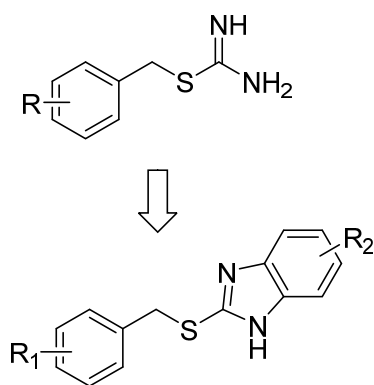


図 3 . ベンジルイソチオウレア誘導体 1 の構造変換

化合物 2 の構造変換においては、R<sub>1</sub> の許容性がかなり広いことが明らかになった。

また化合物 3 の構造変換においては、代謝的に不安定な R 部分を安定化した化合物の創製に成功すると共に、C 部分が必ずしも IDO 活性には必要ではないことを突き止めた (図 4)。

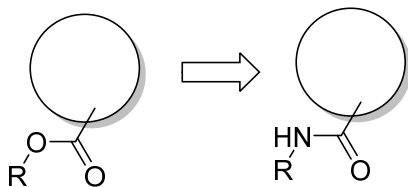


図 4 . 化合物 3 の構造変換

さらに化合物 1 の構造変換の過程において、新たなケモタイプの IDO 阻害剤 4 を見出し、その誘導体デザイン、合成および評価を実施した (図 5)。その結果、末端アミノ酸部分の構造変換により IDO 阻害活性が変動することを明らかにした。本化合物は、その化学構造から共有結合を形成することにより IDO を阻害する可能性が考えられたため、本

化合物と IDO をインキュベーションし、MALDI-TOFMS により解析したところ、MS スペクトルの変化は認められなかった。以上の結果より、本化合物 4 は非共有結合性の IDO 阻害剤であることが示唆された。

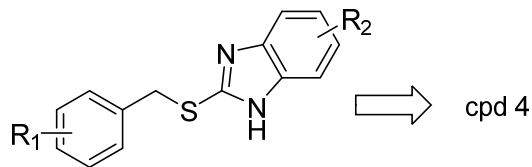


図 5 . 化合物 4 の発見

また細胞系 (A431 細胞) における IDO 阻害活性評価系の構築を検討した。ポジコン化合物が文献値の阻害活性をほぼ再現したことから、本評価系が確立できたと判断した。合成した化合物を評価した結果、期待通り細胞系で IDO 阻害活性を示す化合物を複数見出した。

これらの一連の研究成果として、IDO 阻害活性が当初目標の IC<sub>50</sub>=0.1μM を上回る強力な IDO 阻害活性を示す化合物を多数見出すことに成功したことから、本化合物 (すべてのケモタイプ) を用いた *in vivo* 薬理評価を実施した。その結果、用量依存的な薬理活性が認められ、一連の化合物の中で初めて *in vivo* 活性を示す化合物を見出すことに成功した (特許・論文投稿予定)。一方で、それぞれの不活性類縁体では *in vivo* 活性を示さなかったことから、IDO 阻害に基づく薬理活性が発現したと考えられる。

以上の結果より、3 年間の研究期間において IDO 阻害剤のリード化合物候補を取得できたと判断している。

#### 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 1 件)

In preparation

原稿作成中

〔学会発表〕(計 4 件)

(1) FUKUDA M.; SUZUKI, K.; SASAKI, T.; MIYACHI, H.; WAKI, M.; ASAI, A.; HASHIMOTO, T.; OHNO, O.; TAKIKAWA, O.; MATSUNO, K. Benzimidazole Analogues as Kynurenine Production Inhibitor without Indoleamine 2,3-Dioxygenase Inhibition.

XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMIC 2016), Manchester, UK, August 27 - Sep 1.

(2) Fukuda, M.; Miyachi, H.; Waki, M.; Asai, A.; Takikawa, O.; Matsuno, K.

Cyclisation of Benzylisothiurea Provided Kynurenine Production Inhibitor without Indoleamine 2,3-dioxygenase Inhibition. EFMC-ASMC'15 6th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, Rehovot, Israel, November 15-18, 2015.

(3) 福田美和、脇稔、浅井章良、滝川修、宮地弘幸、松野研司 . Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 阻害活性を有する benzimidazole 系化合物の創製 日本薬学会第 134 年会 熊本 28M-pm22、2014 年 3 月 28 日

(4) Benzimidazole 構造を有する新規 indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 阻害剤の合成と活性評価 福田美和、脇稔、浅井章良、滝川修、宮地弘幸、松野研司 . 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム 広島、1P-53、2013 年 11 月 20 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwa1068/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松野 研司 (MATSUNO, Kenji)  
工学院大学・先進工学部生命化学科・教授  
研究者番号：50433214

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：