

令和 2 年 7 月 13 日現在

機関番号：83805

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07237

研究課題名(和文) 脳腫瘍治療薬を目指す新規サリチル酸類縁体の合成研究

研究課題名(英文) Study of novel salicylic acid analogs for anti brain tumor reagent

研究代表者

安藤 隆幸 (Ando, Takayuki)

静岡県環境衛生科学研究所・医薬食品部・主査

研究者番号：40402226

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)：静岡がんセンターにて悪性脳腫瘍患者の切除組織から樹立に成功したグリオーマがん性幹細胞を標的とし、同細胞に増殖抑制効果のあるサリチル酸誘導体の構造最適化合成を実施した。この化合物は、二つの環構造がアミド結合を介してリンクしている構造を有しており、環上に特徴的な官能基が存在していた。種々の類縁体を合成し活性評価を行ったが、いずれも初期値よりも強い活性を示さなかった。しかしながら、類縁体評価を進めていく上で予期せず窒素を含む二環性複素環化合物が、サリチル酸誘導体より10倍高い活性を示すことを発見した。さらに、正常細胞にも毒性を示さず、悪性グリオーマ細胞との良好な阻害選択性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性脳腫瘍は、未だに極めて難治性で予後の悪い疾患であり、手術後の集学的治療(放射線照射+化学療法)にもかかわらず、再発や転移が発生する。現行のテモゾロミド(TMZ)の薬効は十分ではなく、TMZ耐性となった症例では、現在有効な治療法は確立されていない。我々は、TMZ耐性を示す要因としての悪性グリオーマがん性幹細胞(GBM)に着目し、創薬探索研究を目指した。TMZ耐性GBMに直接作用し、死滅させるかもしくは増殖を完全に抑制する事が可能な化合物を見出すことに成功すれば、画期的な新規脳腫瘍治療薬へと応用可能であり、学術的にも社会的にも意義のある研究といえる。

研究成果の概要(英文)：Novel glioblastoma multiforme (GBM) stem cell was isolated and identified by Dr Akiyama et al in Shizuoka Cancer Center. We found a salicylic acid derivative having the growth inhibition of glioma cell. The optimization of salicylic acid derivative which had inhibitory activity of Glioma cell of malignant brain tumor patient. Over two hundred analogs were designed and synthesized for the clarification of pharmacophore. Unfortunately, any analogs did not show the inhibitory activity. Unexpectedly, the heterocycles with bicycle aromatic ring containing nitrogen atom showed 10 times stronger activity than initial compound. Furthermore, that compound also showed the selective growth inhibition between normal and GBM stem cell.

研究分野：創薬化学

キーワード：悪性脳腫瘍

1. 研究開始当初の背景

脳は神経細胞と神経膠細胞(グリア)と血管等から形成されている組織である。神経膠細胞は神経を支える働きをしており、このグリア細胞から発生した腫瘍が神経膠種(グリオーマ)と定義されており、脳腫瘍の一種である。成人においては、そのほとんどが悪性グリオーマである。悪性度によって、WHO グレードが1~4までに分類され、最も悪性度の高いグレード4のグリオーマは、膠芽種(グリオブラストーマ:GBM)と呼ばれ、グリオーマ全体の30%を占めている。悪性グリオーマは、未だに極めて難治性で予後の悪い腫瘍であり、手術後の集学的治療(放射線照射+化学療法)にもかかわらず、再発や転移が発生する。平均生存期間は12か月と近年予後の改善はほとんど認められていない。新規のアルキル化剤であるテモゾロミド(Temozolomide:以下TMZと略)の出現以来、やや生存期間の延長が報告されているが(Stupp *et al.* 2008)、十分ではなく、TMZ耐性となった症例では、現在有効な治療法は確立されていない。

我々は、TMZ耐性を示すひとつの要因として、悪性グリオーマががん性幹細胞の存在に着目した。近年、がんの根本的治療には、がん幹細胞を完全に叩く必要があることが示されてきており、TMZ耐性悪性グリオーマががん性幹細胞に直接作用し、死滅させるかもしくは増殖を完全に抑制する事が可能な化合物を見出すことに成功すれば、画期的な新規脳腫瘍治療薬へと応用可能であると考へた。

2. 研究の目的

これまでに、静岡がんセンターにて悪性グリオーマ患者の切除組織から樹立に成功したグリオーマががん性幹細胞を標的とし、研究代表者が所属している研究機関で所有している静岡化合物ライブラリーを用いて、同細胞に増殖抑制効果のある化合物のスクリーニングを継続して行ってきた。スクリーニング結果より、数種類のヒット化合物を見出した。その中の一つとして、有力なサリチル酸誘導体があり、その増殖抑制活性のIC₅₀値は1μM程度であった。ヒット化合物のベース構造を有するサリチル酸は、古くから鎮痛剤や、抗生物質であるアスピリンなどの前駆体として用いられてきた化学物質であり、化学構造も非常にシンプルである。本研究では、このヒット化合物の悪性グリオーマ細胞増殖抑制活性を向上させるべく、化合物の部分構造に様々な改変を加えた類縁体を合成し、ナノモルレベルで活性を示し、動物試験で明確な腫瘍縮小効果や延命効果を示す化合物の創製することを目指した。

3. 研究の方法

ヒット化合物であるサリチル酸誘導体の類縁体を系統的かつ網羅的に化学合成した。サリチル酸誘導体構造中、図5に示したように、置換基の種類及び位置、環構造の変換、結合の種類、結合の長さ、化合物の電子密度等のファクターを考慮して、多種類の類縁体をデザインし、実際に化学合成を行い、細胞実験が可能な純度の化合物を合成した。具体的には、骨格、置換基、結合位置、結合原子を修飾した類縁体を、系統的かつ網羅的に化学合成した。

合成化合物の評価には、静岡がんセンター研究所に樹立した悪性グリオーマががん性幹細胞を用いた。最も増殖の速いGB-SCC010を用いて増殖抑制能を評価する。96-wellマイクロプレートに細胞を播込み、幹細胞用培地を使用し、4-7日間培養する。化合物を0.1~100 μMの範囲で混合しsphere形成数をカウントした。コントロールと比較し、IC₅₀値を算出し化合物の評価とした。

4. 研究成果

(1)類縁体合成

研究期間内で、156化合物の類縁体を合成し、悪性グリオーマ細胞の増殖抑制活性を評価した。

(2)サリチル酸部位の修飾

サリチル酸部位における官能基を修飾・置換した化合物をデザインし、構造活性相関の解明を試みた。その結果、ベンゼン環上の2位基をメチル基、アセチル基等で変換すると劇的に活性が減弱することがわかった。5位のClをその他のハロゲンや位置異性体に変換しても活性はおおむね同等であった。このことから、2位水酸基が標的タンパク質と水素結合を形成している可能性が示唆された。

(3)結合形式の修飾

ヒット化合物は、サリチル酸のカルボン酸部位とアミド結合を介して芳香族が結合していた。この結合に炭素を1原子導入した化合物を合成し活性評価を行ったが、著しい活性の低下が観察された。また、エステル結合等に変換しても活性消失が認められた。アミド結合が活性に強く関与していることを明らかにした。

(4)芳香環部位について

サリチル酸に結合している芳香環についても種々の置換基を有する類縁体を合成した。この部位については、厳密な構造が必要ではなく、ベンゼン環に比較的脂溶性の高い置換基が結合していると高活性を示すことがわかった。

(5)新たな高活性化合物の発見

今回の構造最適化合成で、サリチル酸誘導体を中心に類縁体を合成したが、強力な阻害活性を示す化合物は見いだせなかった。しかしながら、類縁体評価を進めていく上で予期せずサリチル酸

誘導体から派生した窒素を含む二環性複素環化合物が、オリジナル化合物より 10 倍高い活性をした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	秋山 靖人 (AKIYAMA Yasuto) (70222552)	静岡県立静岡がんセンター(研究所)・その他部局等・部長 (83802)	