

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：35307

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860082

研究課題名(和文) 臨床的に有用な新規NSAIDの合成と評価

研究課題名(英文) Synthesis and evaluation of new non steroidal anti inflammatory drugs for clinically useful

研究代表者

山川 直樹 (Yamakawa, Naoki)

就実大学・薬学部・講師

研究者番号：20583040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、これまでに明らかとなったNSAIDs依存に誘導される遺伝子と薬理作用との関連性を解明すると共に、有機合成的手法を用いて臨床的に有用な化合物の合成・評価を行うことを目的とした。特に、副作用に関連した分子機構を詳細に解析することにより、有効性かつ安全性の高い医薬品の開発へと繋がる可能性が期待できる。本研究では、抗炎症作用を標的とするタンパク質に選択性が高い化合物は非選択的な化合物と比べて強い膜傷害性を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed at the elucidation of a relationship between a gene induced by NSAIDs-depend and pharmacological action, and at the synthesis and evaluation of a clinically useful compounds by using organic synthetic technique. Particularly, these trials could be useful to develop of pharmaceutical compounds having more effective and high-safety as drug by analyzing the molecular mechanism in conjunction with the side effect in detail. In this study, we have clarified that the compounds which is high-selectivity to the cyclooxygenase have high membrane permeability than non-selectivity compounds.

研究分野：医歯薬学

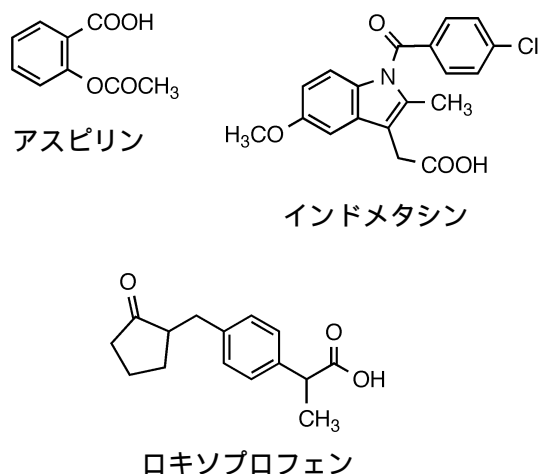
キーワード：医薬品探索

1. 研究開始当初の背景

非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) は消炎・鎮痛作用のみならず、癌やアルツハイマー型認知症にも有効であることが知られている。一方で、NSAIDs 使用に伴う副作用についても、胃潰瘍副作用などの消化管傷害をはじめ、腎臓、肝臓、中枢神経、心血管などに対して様々な傷害をもたらすことが問題となっている。最近、このような NSAIDs の多彩な薬理作用には遺伝子発現の変化が関与していることが、明らかになりつつある。

(1) NSAIDs の薬理効果

NSAIDs は、世界中で最もよく処方されている医薬品の一つであり、医療現場において様々な炎症性疾患に多用されている。代表的な医薬品として、アスピリン (バファリン® など) やインドメタシン (インダシン® など)、ロキソプロフェン (ロキソニン® など) が挙げられるが (下図参照)、これらは、優れた抗炎症作用を示すと同時に、胃潰瘍などの副作用を伴うことが知られている。



(2) NSAIDs の多彩な薬理作用

一般に、NSAIDs はアラキドン酸代謝経路において炎症増悪因子として働くプロスタグランジン (PG) の生成を阻害することで抗炎症作用を発揮することが知られている。一方、近年では、NSAIDs が癌やアルツハイマー型認知症をはじめ、肺繊維症や尿崩症など、消炎・鎮痛作用以外の様々な疾患にも有効であることが報告されている。また、これらの薬理作用には PG の産生阻害以外のメカニズムが働いていることが明らかとされている。例えば、抗アルツハイマー型認知症や抗肺繊維症では、アミロイドタンパク質 (A β) や熱ショックタンパク質 (HSP) の抑制機構がそれぞれ働いており、抗癌作用については、NSAID が細胞増殖過程の細胞周期に遺伝子レベルで作用することが示唆されている。したがって、NSAIDs がもたらす新たな分子機構を解明することは大変重要であり、臨床的に有効な薬剤の開発へ繋がると考えられる。

(3) NSAIDs の薬理作用と遺伝子発現変化

最近の研究で我々は、種々の炎症性疾患において、NSAIDs は種々の遺伝子発現の変化を伴って抗癌作用や抗認知症作用に繋がることが示唆されている (下図参照)。例えば、これまでに我々は、NSAID の抗癌作用にはタイトジャンクション (TJ) 関連の遺伝子の誘導とアポトーシスの促進が関与していること、抗アルツハイマー型認知症の作用には小胞体シャペロン関連の遺伝子の誘導に伴う PG 産生の抑制が関与していることを明らかにした。一方で、NSAID が引き起こす胃潰瘍副作用についても、NSAID による転写因子 (CHOP) の誘導が関連していることを発見した。このように、NSAIDs がもたらす薬理作用には、遺伝子レベルでの生体応答と密接に繋がっていることが示唆されている。

薬理効果	誘導される関連遺伝子
抗炎症作用	ヘムオキシゲナーゼ
抗癌作用	タイトジャンクション
抗認知症作用	小胞体シャペロン

2. 研究の目的

本研究では、これまでに明らかとなった NSAIDs 依存に誘導される遺伝子と薬理作用との関連性を解明すると共に、有機合成的手法を用いて臨床的に有用な化合物の合成・評価を行うことを目的とする。特に、副作用に関連した分子機構を詳細に解析することにより、有効かつ安全性の高い医薬品の開発へと繋がる可能性が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 対象 NSAIDs を限定する

これまでに我々は、国内外で市販されている約 100 種の既存薬 NSAIDs ライブラリーを構築している。一方で、このライブラリーに含まれる NSAID には、種々の細胞において遺伝子発現の変化をもたらすことが判明している。そこで本研究では、遺伝子発現の変化に関連性が高い化合物な系統的な分類を化学構造の観点から行う。その際、既にヒトでの安全性や体内動態が確認されている既存の NSAIDs については重要視し、創薬研究へ発展させやすい化合物の抽出を行う。一般に NSAIDs は酸性または塩基性化合物に大別されるが、特に酸性化合物については、分子の基本骨格の違いにより消炎鎮痛作用に対する効果の度合いや作用時間に差があることから、化学構造との関連性を詳細に解析する必要がある。

(2) 副作用との関連性が高い遺伝子の解析

我々は、NSAIDs がもたらす作用・副作用に伴って誘導される遺伝子に関して、DNA チップまたはプロテインチップを用いた同定及

び解析技術を備えている。また、これまでの DNA チップを用いた網羅的解析から、特に NSAID の薬理作用との関連性が高い遺伝子ファミリーは、HO-1、CHOP、TJ、小胞体シャペロン、HSP などであることを明らかにした。そこで本研究では、これらの遺伝子から特に副作用との関連性が高いものを選別し、細胞評価系に種々の NSAID を作用させ、効果が得られるかの検討を行う。さらに、NSAID がもたらす遺伝子の発現変化について動物モデルを用いて解析を行い、(3)の研究対象とする。

(3) 構造活性相関の解析と創薬展開

(2) の研究で特に顕著な効果を示した化合物について、その周辺化合物の合成を行い、遺伝子発現の変化に関する構造活性相関を調べる。その際、効率的かつ系統的な戦略で有機合成を行う。例えば、我々は酵素シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) に選択性の高い化合物を得るために、NSAID と COX-2 との相互作用に関するドッキングシミュレーションを行った後に合成戦略を立てた結果、高確率で目的化合物を得ることができた。合成した化合物の作用・副作用を細胞または小動物を用いて解析を行い、有効性と安全性に優れた化合物の創薬展開を図る。

4. 研究成果

(1) 対象 NSAIDs ライブラリーの再構築

約 100 種の既存薬 NSAIDs ライブラリーの中から、これまでの研究で同定した遺伝子 (HO-1、CHOP、TJ、小胞体シャペロン、HSP など) の誘導と関連性が高い化合物を抽出し、化学構造に基づいて系統的に分類した約 30 種のサブライブラリーを構築した。

(2) 副作用との関連性が高い遺伝子の解析

DNA チップまたはプロテインチップを用いて、対象 NSAID により誘導される遺伝子を解析した。特に興味深い結果として、COX-2 に選択性が高い化合物群を炎症性細胞に作用させた場合、NSAID 依存に顕著に発現する遺伝子が確認された。また、この現象は動物実験においても同様の結果が得られ、胃潰瘍副作用との関連性が高いことが示唆された。

(3) 構造活性相関の解析

COX-2 に選択性が高い化合物について、種々の誘導体を合成し、(2)の実験に対する構造活性相関を細胞レベルで調べた。また、合成した一連化合物について胃粘膜を模倣した人工細胞を用いた膜傷害評価を行った。その結果、抗炎症作用を標的とするタンパク質に選択性が高い化合物は非選択的な化合物と比べて強い膜傷害性を示すことを見出した。今後はこれら合成化合物の中から最も薬理効果の高い化合物の抽出を行い、臨床的に有用な医薬品開発へ向けた展開を図る予定である。

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4件)

Kei Moriyama, Naoko Furuno, Naoki Yamakawa, Crystal face identification by Raman microscopy for assessment of crystal habit of a drug. International Journal of Pharmaceutics, 査読有, 480:101-106,2015.
DOI:10.1016/j.ijpharm.2015.01.031.

Ken-Ichiro Tanaka K, Shota Kurotsu, Teita Asano, Naoki Yamakawa, Daisuke Kobayashi D, Yasunobu Yamashita, Hiroshi Yamazaki, Tomoaki Ishihara, Hiroshi Watanabe, Toru Maruyama, Hidekazu Suzuki, Tohru Mizushima, Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic obstructive pulmonary disease. Scientific Reports, 査読有, 28: 4510,2014.
DOI: 10.1038/srep04510.

Naoki Yamakawa, Koichiro Suzuki, Yasunobu Yamashita, Takashi Katsu, Kengo Hanaya, Mitsuru Shoji, Takeshi Sugai, Tohru Mizushima, Structure-activity relationship of celecoxib and rofecoxib for the membrane permeabilizing activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 査読有, 22: 2529-2534,2014.
DOI:10.1016/j.bmc.2014.02.032.

Yasunobu Yamashita, Ken-Ichiro Tanaka, Teita Asano, Naoki Yamakawa, Daisuke Kobayashi, Tomoaki Ishihara, Kengo Hanaya, Mitsuru Shoji, Takeshi Sugai, Mitsuhito Wada, Tadaaki Mashimo, Yoshifumi Fukunishi, Tohru Mizushima, Synthesis and biological comparison of enantiomers of mepenzolate bromide, a muscarinic receptor antagonist with bronchodilatory and anti-inflammatory activities. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 査読有, 22: 3488-3497,2014.
DOI: 10.1016/j.bmc.2014.04.029.

[学会発表](計3件)

佐藤絢香, 関口絵梨奈, 畑島一範, 勝孝, 山川直樹, COX-2 選択的 NSAIDs の膜傷害

作用に対する構造活性相関 [日本薬学会
第 136 年会] (2016 年 03 月 27 日-2016 年
03 月 30 日, パシフィコ横浜, 神奈川県横
浜市)

Naoki Yamakawa and Tohru Mizushima,
Membrane permeabilization and
biological activity of
fluoro-loxoprofen. [環太平洋国際化学
会議 PACIFICHEM 2015] (2015 年 12 月 15
日-2015 年 12 月 20 日, コンベンションセ
ンター, 米国ハワイ州ホノルル市)

木瀬なつみ, 木下菜, 水島徹, 山川直樹,
臨床的に有用な非ステロイド性抗炎症薬
の創製 [日本薬学会第 135 年会] (2014 年
03 月 27 日-2014 年 03 月 30 日, 神戸学院
大学, 兵庫県神戸市)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

山川直樹 (YAMAKAWA, NAOKI)

就実大学・薬学部・講師

研究者番号 : 20583040