

氏名	小川誠治
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第7652号
学位授与年月日	平成28年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理解物質科学研究科
学位論文題目	Syntheses and bioactivities of oxygenated lipid derivatives (酸化脂質代謝物の合成研究と生物活性)

主査	筑波大学教授	理学博士	木越 英夫
副査	筑波大学教授	工学博士	鍋島 達弥
副査	筑波大学教授	理学博士	市川 淳士
副査	筑波大学教授	理学博士	長瀬 博

論文の要旨

生理活性脂質は、さまざまな病態あるいは生命現象を制御する分子である。ヒトを初めとして各種生物のゲノム配列が明らかとなり、プロテオミクスの研究が盛んに行われている今日、創薬の次のターゲットとして脂質に注目が集まっており、その重要性は広く認知されている。しかしながら、脂質は水に不溶であり、光あるいは酸素などに対して不安定であるといった点が、本領域の進展を難しくしている原因である。このような脂質研究において、脂質分子を網羅的かつ効率的に合成するための方法論を確立すること、詳細な薬理評価のための化学的に安定なツール化合物を取得することが、これらの研究を推進するための大きな原動力となる。これまで著者は、 ω -6 不飽和脂肪酸由来の代謝物プロスタグランジン E₂ の受容体の一つである EP2 受容体のバイアスド作動薬創製に関わる研究、 ω -3 不飽和脂肪酸由来の代謝物 resolvin E2 の合成研究、また生理活性カルボン酸誘導体として haterumalide NA の合成研究を行ってきた。

G タンパク質バイアスド EP2 受容体作動薬の創製研究

プロスタグランジン E₂ (PGE₂) は、 ω -6 不飽和脂肪酸であるアラキドン酸由来の酸化脂質代謝物であり、生体内において多種多様な薬理作用を発揮する。PGE₂ の受容体の一つである EP2 受容体は血管、子宮、気管支等に存在しており、血管拡張作用、気管支、子宮平滑筋の弛緩作用などの薬理作用を示すことから古くより創薬の標的となってきた。既に数多くの EP2 受容体選択的な作動薬が見出されており、EP2 受容体の薬理的な研究の進展に貢献している。一方で、これまで数多くの EP2 作動薬について臨床試験が行われてきたものの、未だに治療薬として上市の承認を得ている例はない。開発中止の理由は明らかとなっていないが、EP2 作動薬の多様な薬理作用が臨床での副作用に繋がったのではないかと考えられる。そこで著者は G タンパク質共役型受容体(GPCR)のバイアスドリガンドに着目した。GPCR

には G タンパク質に共役したシグナル伝達以外にも、複数のシグナル分子が存在することが明らかとなっている。その中でも B アレスチンは、G タンパク質とは独立したシグナル伝達を行い、生体の機能制御に関与していることが明らかとなっている。近年 GPCR の下流にあるこれらシグナルに偏り(バイアス)をかけるリガンドが注目を集めている。シグナルにバイアスをかけることにより従来のリガンドとは異なる作用、すなわち有効性の上乗せ効果、副作用の軽減に繋がる可能性が示差されている。EP2 受容体についても、下流シグナルの機能評価が行われており、G タンパク質を介したシグナル伝達により、脳において神経保護作用を示す可能性が示差されている。一方、B アレスチンシグナルについては、副作用に繋がるような血管新生や腫瘍細胞の細胞増殖に関与することが明らかとなっている。そのため著者は、EP2 受容体作動薬の新たな創薬の可能性を追求するため、G タンパク質選択的にシグナル伝達を起こす G タンパク質バイアスドリガンドの探索研究を行った。

G タンパク質バイアスドリガンドを探索するため、自社の EP2 受容体作動薬についてスクリーニングを行った。しかし社内の PGE₂ 誘導体のライブラリの中にはシグナルにバイアスをかける化合物を見出すことが出来なかった。また、プロスタノイド受容体についてはバイアスドリガンドの報告は無いことから、新たな骨格を持つ化合物を開発する必要があるものと考え、探索合成を行った。

EP2 作動活性の発現に重要な効果を示すチアゾール構造とプロスタサイクリン PGI₂ の母骨格とを組み合わせた化合物をデザインし合成した結果、合成した化合物は顕著な EP2 作動活性を有することが明らかとなった。また他の受容体に対する選択性を向上されるため、 ω 側鎖部位の構造の最適化を行った結果、優れた選択性を示すリード化合物(フェノキシ誘導体)を得ることができた。さらに、シグナルのバイアス性評価を実施した結果、新規構造を有する一連の EP2 作動薬はすべて G タンパク質バイアスドリガンドであることが明らかとなった。

優れたサブタイプ選択性を示したフェノキシ誘導体から、さらなる G タンパク質活性の向上と、構造-機能選択性相関(SFSR)を得るため、 α 側鎖、母骨格、及び ω 側鎖の構造の最適化を行った。フェノキシ部位に種々の置換基を導入した結果、メタ位にメチル基、パラ位にクロロ基を導入することにより G タンパク質活性のみがリード化合物に比べ約 20 倍増強することを見出した。さらに母骨格の変換により非天然型の 11B 立体配置の水酸基を有する化合物において、B アレスチンシグナルを増強することなく、G タンパク質活性が向上することを明らかとした。構造-機能選択性相関については、 ω 側鎖の構造が G タンパク質、B アレスチンシグナルの調節を担っており、フェノキシ部位のオルト、メタ位に嵩高い置換基を導入した際に顕著に B アレスチン活性が増強する。またメタ、パラ位 2 置換体については置換基の嵩高さ電子状態に関係なく、G タンパク質シグナルのみを活性化する G タンパク質バイアスドリガンドであることを明らかとした。

Resolvin E2 の合成研究

ω 6 不飽和脂肪酸由来の酸化代謝物プロスタグランジン類は、炎症の急性期において起炎物質として作用することが知られている。一方で、エイコサペンエン酸、ドコサヘキサエン酸といった ω -3 不飽和脂肪酸は古くから抗炎症作用、脳神経保護作用等を有することが報告されているが、その詳細なメカニズムは不明であった。近年のメタボローム解析技術の進展に伴い、これら抗炎症作用を担う炎症収束性の酸化脂質代謝物 resolvin 類が同定され注目を集めている。著者は、resolvin 類の網羅的合成と特異な薬理作用の制御を視野に入れ、resolvin E2 の合成に着手した。

著者は、分子に内在する対称性を利用する効率的な合成戦略を用いた。シクロブテンジカルボン酸無水物を出発原料として、エナンチオ選択的非対称化反応により互いに鏡像体の関係にある 2,3-エテニル- γ -ラクトンへと誘導した。各側鎖部位をシクロブテン上の固定化された反応場を利用し立体選択的に導入し、C1-10、C13-20 フラグメントに共通するトランス-2,4-ジエン-1-オール構造を熱的電子開環反応により立体選択的に構築した。アセチレン部位と両フラグメントをカップリング反応で順次連結した後、Lindlar 還元によりアセチレン部位をシスオレフィンへと変換し、酸化段階の調節を行うことで、resolvin E2 を合成した。

合成した resolvin E2 について、ザイモザン A 惹起マウス急性腹膜炎モデルにおける薬理活性を評価した結果、resolvin E2 は 0.1 μ g/マウス という低投与量から、投与量依存的に好中球の腹膜内への浸潤顕著に抑制した。さらに resolvin E2 が TNF- α や IL-6 といった炎症性サイトカインの産生を阻害することを明らかにした。

Haterumalide NA メチルエステルの合成研究

Haterumalide NA は沖縄県波照間島周辺の海綿より単離、構造決定されたマクロライドであり、P388 マウスリンパ性白血病細胞に対して強力な細胞毒性を有している。構造的特徴としては 14 員環マクロラクトン構造、*trans*-2,5-ジアルキルテトラヒドロフラン構造、(*Z*)-クロロオレフィン構造などがあり興味のある合成ターゲットである。著者は、haterumalide NA の絶対立体構造の確認、及び生物学的な研究への量的供給を目的として全合成研究を行った。

L-酒石酸ジエチルを出発原料として、エナンチオ選択的に C9-C15 フラグメントを合成した。また 3-ブチン-1-オールを出発原料として C5-C8 フラグメントを合成した。この両フラグメントを連結して (*E*)-ビニルシラン体を得た。次いで、(*E*)-ビニルシラン体から、NCS を用いたクロロオレフィン化反応、Horner-Emmons 反応を鍵反応としてアリルアルコール体を合成した。

アリルアルコールよりブromoエステル体を合成した後、分子内 Reformatsky 反応により マクロラクトン構造を構築した。一方、3-ブチン-1-オールを出発原料として C16-C19 フラグメントを合成した。マクロラクトン体から誘導したアルデヒド体と C16-C19 フラグメントを野崎-檜山-岸カップリング反応により連結し、haterumalide NA メチルエステル体を合成した。

こうして得られた合成品の haterumalide NA メチルエステルは天然品のエナンチオマーであることが判明した。この結果より haterumalide NA の立体化学を 3*R*, 11*R*, 13*R*, 14*R*, 15*R* と決定した。

審 査 の 要 旨

[批評]

著者は、生物活性脂質の合成と生物活性について、研究を行っている。まず、これまで創薬研究が十分に進んでいないプロスタグランディン E2 作動薬の開発を目指して、バイアスドリガンドの概念に着目して EP2 受容体に作用するリガンドの探索を行った。その結果、EP2 受容体選択的 Gタンパク質バイアス作動薬のリード化合物を見出した。この化合物は、プロスタノイド受容体で初めてのバイアスドリガンドであり、これらリガンドを用いることでプロスタグランジン受容体の下流シグナルのさらなる機能解明に繋がる事が期待できる。また生物活性脂質代謝物である resolvin E2 と haterumalide NA の効率的な合成法を確立した。確立した合成法を基に、さらなる安定誘導体への合成展開への広がりが期待できる。

以上のように、本論文は創薬化学分野および合成有機化学分野で高く評価される内容であり、博士論文としてふさわしい内容と評価される。

〔最終試験結果〕

平成28年2月10日、数理物質科学研究科学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。