

|         |  |
|---------|--|
| 氏名（本籍）  | 成瀬 康介（北海道）                             |
| 学位の種類   | 博士（薬学）                                 |
| 学位記番号   | 甲 第158号                                |
| 学位授与年月日 | 平成26年3月17日                             |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項該当者                          |
| 学位論文の題名 | がん微小環境におけるストレス応答を標的とするビグアニド誘導体の創薬化学的研究 |
| 論文審査委員  | 主査 伊藤 彰近<br>副査 足立 哲夫<br>副査 門口 泰也       |

## 論文内容の要旨

高齢化社会のがん治療戦略として腫瘍選択性の向上、予後の改善や再発の予防を考慮した治療薬の開発が強く求められている。近年、がん微小環境に関する研究が世界的に推進され、がんの悪性化、放射線や化学療法に対する治療抵抗性、浸潤、転移、がん幹細胞の維持などにおいて、がん微小環境が重要な役割を果たすことが明らかになってきた。がん微小環境では、低酸素・低栄養ストレスが亢進し、これらに対する応答機構として、HIF-1 シグナル系や unfolded protein response (UPR) が活性化され、劣悪な環境での生存を可能にしている。このようながん微小環境ストレスに対する適応応答機構を阻害することができれば、腫瘍特異性に優れた新たながん治療薬となると考えられる。そこで、がん微小環境を標的とする治療薬の開発を目指し、UPR 阻害剤として報告されたビグアニド系糖尿病薬に着目し、創薬化学的研究を行った。

### 1. ビグアニド誘導体に関する HIF-1 転写活性化阻害、UPR 活性化阻害および低栄養選択的細胞毒性の構造活性相関

ビグアニド系糖尿病薬のうち、最も強い UPR 阻害作用を示した phenformin の構造に着目して構造展開を行った。phenformin は、ビグアニド部位、ベンゼン環部位とそれらを結ぶアルキレンリンカー部位に分けられ、それぞれの部位を種々変換し、39 種類のビグアニド誘導体を合成した。それらを用いて、HIF-1 および UPR 応答ルシフェラーゼ活性、グルコース欠乏ストレス条件下の低栄養選択的毒性を指標に、構造活性相関およびスクリーニングを行った。結果として、リンカー鎖長は、細胞毒性の低栄養選択性に優れていた ethylene 鎖を、合成の簡便性も考慮して選択した。ビグアニド部位を種々のバイオイソスターに変換した場合、guanidino 基を有する GPU-231 のみが、phenformin に匹敵する活性を示した。このことから、生理的条件下でモノカチオン性を有することが重要であ

ることが示唆された。さらに、ベンゼン環部位への置換基導入効果を検討した結果、Me基、Cl基はいずれの位置に導入した場合でもレポーター活性阻害効果と低栄養細胞毒性の増強が認められたが、*o*-Me基あるいは*o*-Cl基を導入した GPU-469 および GPU-529 が特に優れた活性を示した。電子供与性の Me 基および電子吸引性の Cl 基のいずれにおいても活性が増強したこと、嵩高い置換基や極性の高い置換基の導入により、活性が減弱もしくは消失したことから、上記の生物活性は電子的効果よりも立体的効果によって支配されると考えられた。

## 2. ビグアニド誘導体の生物活性

上記により選別された GPU-231、GPU-469、GPU-529 に関して、各種生物活性を検討した。これらの化合物はいずれも低酸素条件下では選択的細胞毒性を示さないが、低栄養条件で強い細胞毒性を示した。また、グルコース欠乏条件における選択毒性は p53 の変異の影響を受けなかった。また、HIF-1 $\alpha$  および小胞体分子シャペロン GRP78 のストレス条件下におけるタンパク質発現の亢進を抑制し、特に GPU-469 および GPU-529 はリード化合物の phenformin よりもかなり強い抑制作用を示した。さらに、血管新生阻害作用に関する検討を行った結果、低酸素または低栄養ストレス条件下で誘導される VEGF-A 分泌を抑制し、鶏卵漿尿膜 (CAM) 法より、顕著な *in vivo* 血管新生阻害能を有することが明らかとなった。以上の結果より、得られた候補化合物はがん微小環境を標的とするがん治療薬のシードとして有用であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

申請者は、固形がんの微小環境における適応応答を阻害することで、がんの悪性化、治療抵抗性、転移・再発等の抑制が可能と考え、小胞体ストレス応答阻害作用が報告された抗糖尿病薬のビグアニド系化合物に着目し、その誘導体合成及びセルベーススクリーニング評価による構造活性相関研究を行った。さらに、それらの中で優れた候補化合物については、関連遺伝子タンパク発現に対する影響や *in vivo* での血管新生阻害作用について検討を行った。その結果、がん微小環境において活性化される低酸素誘導因子 HIF-1 及び小胞体ストレス応答に対して優れた阻害活性を示し、かつ低栄養条件において特異的に細胞毒性を示すビグアニド誘導体 GPU-469 及び GPU-529 の開発に成功した。さらに、これらの化合物はがん微小環境ストレスによって亢進される VEGF-A タンパク発現を阻害し、*in vivo* での血管新生阻害作用を有することから、新たながん治療薬のリード化合物として有用であると期待される。本知見は、今後のがん治療薬への構造最適化と標的タンパクを解明するためのプローブ開発にとって有用であり、博士（薬学）論文として価値あるものと認める。