

# 博士論文要旨

腫瘍微小環境におけるエネルギー代謝とストレス応答を標的とする

抗腫瘍ビグアニドの開発研究

境 崇 行

代謝リプログラミングは、がんの新たな特徴と考えられており、抗がん剤開発のための腫瘍選択的な標的として注目されている。最近の研究では、様々ながん細胞において、酸化リン酸化（OXPHOS）の活性化が起きていることが報告されている。特に解糖系に障害を有するがん細胞は、エネルギー代謝や生合成を OXPHOS に依存しているため、OXPHOS 阻害剤に対する感受性が極めて高いと考えられている。したがって、OXPHOS 阻害剤のようなミトコンドリア代謝を標的とした治療戦略は有望と考えられ、近年注目が集まっている。2 型糖尿病の治療薬として知られるメトホルミンやフェンホルミンなどのビグアニド系薬剤は、ミトコンドリアの呼吸鎖複合体 I の強力な阻害剤である。そこで、がん微小環境（TME）のストレス応答系を標的とするがん治療薬の創製をめざして、フェンホルミンのアリールビグアニド骨格を基盤とする構造展開を行った。得られた新規ビグアニド誘導体について、低栄養選択的細胞毒性、低酸素ストレス応答及び小胞体ストレス応答阻害作用、エネルギー代謝阻害作用、細胞死の解析などの種々の生物活性評価を行い、構造活性相関について考察した。

**1. アリールビグアニド誘導体の構造展開：**アリールビグアニド骨格を基盤とする構造展開として、芳香環への置換基の導入、アルキレンリンカーのホモロゲーション、ビグアニド部位の N1 または N5 位への置換基の導入について検討した。多様なアリールビグアニド誘導体は、対応する種々の第一級または第二級アミンとジシアンジ

アミドのマイクロ波照射による多様性指向合成により、迅速かつ効率的に得られた。

**2. アリールビグアニド誘導体の構造活性相関：**HT29 細胞を用いて、グルコース存在または非存在下の細胞毒性試験、低酸素誘導因子（HIF）-1 応答及び小胞体ストレス応答（unfolded protein response: UPR）ルシフェラーゼアッセイにより評価した。芳香環のオルトまたはパラ位にハロゲン、メチル及びエチル基を導入すると、フェノホルミンに比べていずれの活性も向上した。そのうち *o*-クロロ体が最も強い低栄養選択毒性を示した。続いて、アリール-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-ビグアニド（n = 0-6）の比較を行ったところ、n = 5 または 6 のアルキレンリンカーを持つ誘導体が最も阻害活性が高かった。以上の検討の結果、最も活性が強かった化合物は、n = 5 の *o*-クロロフェニル誘導体（**71**）で、フェノホルミンの数十倍の低栄養選択毒性（IC<sub>50</sub>; 1.9 ± 0.1 μM）と HIF-1 及び UPR 転写活性化阻害作用（各々 IC<sub>50</sub>; 1.0 ± 0.1 μM, 7.5 ± 0.1 μM）を示した。ビグアニド基の N1 または N5 位に置換基を有する二置換 *o*-クロロビグアニド類は、フェノホルミンと同程度または低い生物活性を示した。

**3. アリールビグアニド誘導体の種々の生物活性に関する評価：**上述のスクリーニングで最も有望であった化合物 **71** は、CAM アッセイにおいて、0.5 μg/CAM という低用量で血管新生を阻害した。低酸素によって誘導される HIF-1α のタンパク質発現とグルコース飢餓によって誘導される GRP78 および GRP94 のタンパク質発現を著しく低下させた。また、腫瘍細胞のエネルギー代謝解析の結果、**71** はグルコース存在下で OXPHOS を強く阻害し、補完的に解糖系を活性化させたが、グルコース非存在下では両者とも強く抑制し、結果として細胞のエネルギー枯渇とアポトーシスを引き起こすことが明らかになった。以上により、新規アリールビグアニド **71** は腫瘍微小環境におけるエネルギー代謝とストレス応答を標的とする多面的な生物活性を有し、新規がん治療薬として有望であることが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

|         |   |
|---------|---|
| 氏名（本籍）  | 境 崇行<br>(熊本県)                               |
| 学位の種類   | 博士（薬学）                                      |
| 学位記番号   | 甲 第 1 9 3 号                                 |
| 学位授与年月日 | 令和 3 年 9 月 2 7 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 | 腫瘍微小環境におけるエネルギー代謝とストレス応答を標的とする抗腫瘍ビグアニドの開発研究 |
| 論文審査委員  | (主査) 伊藤 彰近                                  |
|         | (副査) 原 宏和                                   |
|         | (副査) 遠藤 智史                                  |

本研究では、腫瘍の微小環境のエネルギー代謝リプログラミングを標的とするがん治療薬の創製を目指して、ミトコンドリア代謝阻害作用を有するアリアルビグアニド類に着目し、その構造活性相関を検討している。まず構造展開として、①芳香環への置換基の導入、②アルキレンリンカーのホモロゲーション、③ビグアニド部位の N1 又は N5 位への置換基の導入を行い、19 種のアリアルビグアニド誘導体を合成した。次にこれら誘導体の各種生物活性評価を行い、グルコース欠乏条件下で特異的にミトコンドリア呼吸を強く阻害し、最終的にはエネルギー枯渇による細胞死へと導くことができる強力な新規化合物 5-(2-Chlorophenyl)pentylbiguanide を見出すことに成功した。さらに申請者は、本化合物ががんの微小環境ストレスへの適応に重要な因子である HIF-1 や UPR のシグナル伝達を強力に阻害することも明らかにしている。これらの結果より本化合物は、低酸素、小胞体ストレス、代謝ストレス等のストレス応答機構を無効化する多面的効果を有し、これらの効果が腫瘍のエネルギー代謝異常と合成致死的に働くことで低栄養がん微小環境選択的に細胞死を誘発するものと期待される。以上の知見は、5-(2-Chlorophenyl)pentylbiguanide が新たな腫瘍選択的治療薬のシードとして有望であることを示唆しており、博士（薬学）論文として価値あるものと認める。