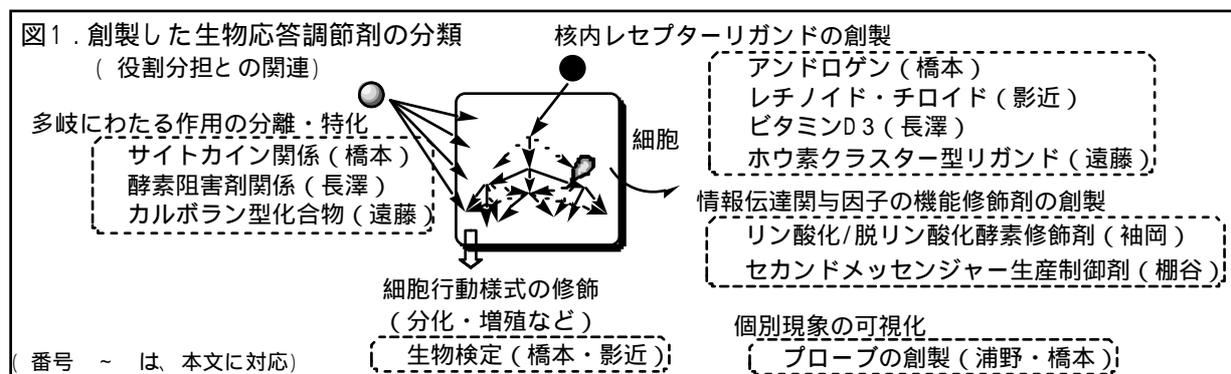


## 平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書

ふりがな		はしもと ゆういち					
研究代表者氏名		橋本 祐一		所属研究機関・部局・職		東京大学・分子細胞生物学研究所・教授	
研究課題名	和文	再生医療を支援する生物応答調節剤の創製研究					
	英文	Design and Development of Biological Response Modifiers					
研究経費		平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	平成18年度	総合計
16年度以降は内約額 金額単位：千円		16,500	28,100	23,100	10,600	9,100	87,400
研究組織（研究代表者及び研究分担者）							
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）				
橋本 祐一	東京大学・分子細胞生物学研究所・教授	生物有機化学	研究の統括及び生物応答調節剤の設計計画の立案				
長澤 和夫	東京大学・分子細胞生物学研究所・助教授	有機合成化学	蛋白-蛋白相互作用を制御する生物応答調節剤の創製				
遠藤 泰之	東北薬科大学・薬学部・教授	医薬化学	ハウ素クラスター型生物応答調節剤の創製				
影近 弘之	東京大学・大学院薬学系研究科・助教授	医薬化学	生物応答調節剤としての核内レセプターリガンドの創製				
浦野 泰照	東京大学・大学院薬学系研究科・助手	薬品代謝化学	生物応答調節剤の可視プローブ化及びその作用の可視化				
袖岡 幹子	東北大学・多元物質科学研究所・教授	生物有機化学	対リン酸化・脱リン酸化酵素生物応答調節剤の創製				
棚谷 綾	東京大学・分子細胞生物学研究所・助手	機能有機化学	セカンドメッセンジャーの生産を制御する生物応答調節剤の創製				
当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）							
<p>本研究課題では、「再生」を細胞の「分化・増殖・アポトーシスを3大メカニズムとして生ずる生理的現象」と捉える。更に、今日の問題である癌・動脈硬化・糖尿・リウマチなどの多くの疾患が「生体内における各細胞種が共同して行う再生が失敗したケース」と捉える。これらの疾病原因たる「再生不良・失敗・不備」の生体内での正常化が当該疾病の克服に直結する。</p> <p>ここでいう「再生医療」を支援し具現化するために、二つのタイプの生物応答調節剤、すなわち、(1) 主として核内レセプターやその情報伝達に關与する因子を標的にするものと、(2) 体液因子やその生産系、相互作用系を標的とするもの、を医薬リードとして創製しようとする。</p> <p>第1のタイプ（細胞行動様式制御剤）は、各細胞の行動を遺伝子発現のレベルで制御し正常化するものであり、またそれは「ex vivo 系」においては当該の未分化細胞を所望の方向へ分化誘導するもの（例：レチノイド）である。第2のタイプは、サリドマイドに代表される、生体内環境や疾病の増悪因子を制御する化合物群、すなわち「生体内環境制御剤」である。</p> <p>本研究を通じて、特に応用的側面においては「再生医療 = 再生正常化 = 自然治癒」を支援する医薬リードを創製し、「再生医療支援薬」という新たな医薬カテゴリーを確立することを最終目的とした。</p> <p>また、基礎的側面として、上記最終目的の達成のために必要になるであろう、構造主義生物学的・非物質還元主義的な取り扱いを、ゲノム創薬に相補する「ホリスティックな創薬」を目指す実験化学者が用いることが可能な手法として確立することを最終目的とした。</p>							

これまでの研究経過（研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。）

この2年間は、本研究課題の枠組みの中で各研究者がそれぞれ有機的に連携する分担課題（図1）の範疇の中で、自由な発想をもって新構造の生物応答調節剤ないし関連化合物の創製に取り組んできた。



第1のタイプの生物応答調節剤である核内レセプターリガンドに関しては、独自に核内レセプターアンタゴニストの設計一般に通用する「核内レセプターの活性制御理論」を構築し、これに基づき、核内アンドロゲンレセプターの点突然変異によって抗アンドロゲン耐性を獲得したヒト前立腺癌細胞に対しても有効な新規非ステロイド型・イソキサゾロン型抗アンドロゲンの創製（橋本、*BMCL*, 2003）、核内レチノイドXレセプターに特異的なアンタゴニストの創製に初めて成功（影近、*JMC*, 2002）、初の含窒素ビタミンD<sub>3</sub>アンタゴニストの創製に成功（長澤、*BMCL*, 投稿中）、ホウ素クラスター型エストロゲンの創製及びその構造活性相関の解釈（遠藤、*BMCL*, 2003）等の成果を上げた。

第2のタイプの生物応答調節剤ならびに可視化プローブに関するものとしては、

サリドマイドの構造展開と活性拡張研究を展開して、サリドマイドをマルチ創薬テンプレートとして活用する手法を確立し、COX阻害剤、癌細胞浸潤阻害剤としてのピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ（PSA）阻害剤、 $\mu$ -カルパイン阻害剤、などを創製（橋本、*BMC*, 2002, *CPB*, 2003, 等）

蛋白表層を認識することによって蛋白-蛋白相互作用を阻害する Batzelladine 及びその類縁体の全合成及びそのCD4との結合の確認（長澤、*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, 印刷中）

カルボランを疎水性ファルマコフォアとする簡便なコンピュータ分子設計法考案（遠藤、*BMCL*, 2003）

免疫細胞増殖活性化に関わる鍵酵素「カルシニューリン」の選択的阻害剤の創製（袖岡、*JACS*, 2003）、PKCの活性を制御するイソベンゾフラン型リガンド及び分子かすがいの創製（袖岡・橋本、未発表）

各種生活習慣病の増悪に関わる一酸化窒素合成酵素に対する、小分子・非アミノ酸型阻害剤の創製（棚谷、*CPB*, 投稿中）

一酸化窒素や活性酸素を可視化するプローブの開発とその蛍光特性制御法の確立（浦野、*JACS*, 2003）ならびに生細胞中でPSAを可視化する蛍光プローブの創製（橋本、*BMCL*, 2003）

等の成果を上げている。

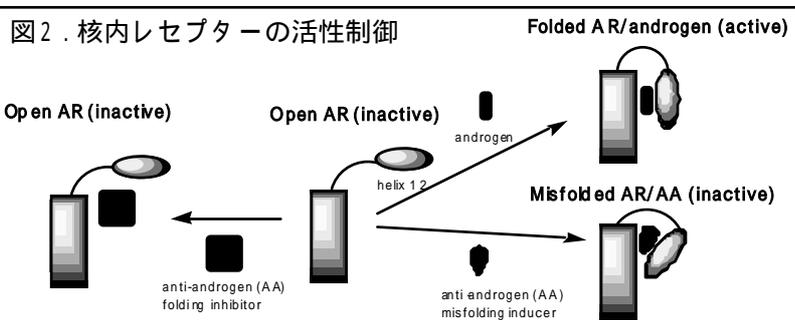
創製した生物応答調節剤の、本研究課題で定義する再生医療への応用展開の側面としては、

(1) 合成レチノイド Am80（創製は本研究課題開始以前：初報は1984発表）を白血病治療薬として承認申請、(2) 合成レチノイド TAC101（創製は1990発表）の固形癌を対象とした臨床試験遂行、(3) 合成レチノイドが転写因子 KLF5 の活性制御することを見だし、動脈硬化や心肥大などに有効な可能性を提示（影近、*Nature Med.*, 2002）、(4) レチノイドの Th1/Th2 分化制御活性の発見（影近、*Int. Immunol.*, 2003）、(5) 合成抗アンドロゲンの前立腺癌モデル動物における有効性の確認（橋本、未発表）、(6) TAC101 のリウマチモデル動物における有効性の確認（影近、*Pharmacology*, 2003）等が主な成果である。

いずれも国内外から注目される研究成果であると考えており、研究代表者ならびに分担者による学会招待講演（2002～2004.3）は、国際学会のべ15回、国内学会のべ20回に及ぶ。また、長澤は平成15年度日本薬学会奨励賞を受賞し、浦野は平成16年度日本薬学会奨励賞、袖岡は平成16年度化学会学術賞を受賞する。

特記事項 (これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。)

### 核内レセプターの活性制御理論に基づく新規核内レセプターアンタゴニストの創製



本研究グループは、多数の核内レセプターリガンドの創製研究及びそれらのコンピュータドッキングスタディを通じて、核内レセプターアンタゴニストが核内レセプターの部分構造であるヘリックス 12 の「folding inhibitor」と「misfolding inducer」の 2 群に大別できることを提案し(図 2)、これに基づき、

(1) 前立腺癌のホルモン療法上、最大

の課題の一つである、点突然変異による抗アンドロゲン耐性を克服しえる抗アンドロゲンの創製(橋本、*BMCL*, 2003)

(2) 核内レチノイド X レセプターに特異的なアンタゴニストの創製に初めて成功(影近、*JMC*, 2002)

(3) 初の含窒素ビタミン D<sub>3</sub> アンタゴニストの創製に成功(長澤、*BMCL*, 投稿中)

といった成果を上げてきた。

特に上記(3)項は、これまでに 3000 以上もの誘導体が合成されながらわずかに 2 系統しかアンタゴニストが知られていないビタミン D<sub>3</sub> の医薬化学に大きなインパクトを与えるものであり、論理的な設計によれば狙った活性を有する化合物をピンポイントで創製することが可能であることを示せたと考えている。

同時に図 2 に示す活性制御の原子位置レベルでの解析を元にしたリガンド分子設計法が核内レセプター全般に通用するものであることを実証したものと考えている。本手法の、TR, FXR, PPAR 等の他の核内レセプターへの応用展開を計画している。

類似の手法を PKC に活用して本手法が様々な機能タンパク質に応用展開可能であることも示した(袖岡・橋本、*BMCL*, 投稿中)。

#### ●サリドマイドのマルチ創薬テンプレートとしての活用——ドラマタイプ創薬手法の発信

これまでのサリドマイドの構造展開と活性拡張研究から、「活性に焦点を当て、マルチターゲット医薬をシーズとしてそこから scaffold たるプロトファルマコフォア骨格を抽出し、当該活性の再現と特化を志向した構造展開によって所望の活性を再現する」手法がほぼ確立できてきた(橋本・棚谷)。本手法は、薬物標的の主体を個々の遺伝子産物ではなく、一連の遺伝子の相互作用、すなわち諸要素の間の関係を規定する枠組みたる論理回路に置くという立場であり、ゲノム創薬に相補する「ドラマタイプ(演出型)創薬」として発信している(橋本、*Drugs Future*, 印刷中)。

たとえば本研究課題で見いだした、癌細胞浸潤阻害剤の分子標的としての PSA は、ゲノム創薬の手法では決して見いだせないものである(橋本、*CPB, BMCL*, 2003)。

基礎学問的には、申請当初に掲げた最終到達目的の一つである、「構造主義生物学的・非物質還元主義的な取り扱いの、実験化学者に可能な手法としての確立」の第一歩であると捉えている。

#### ●精密な物理化学的計算に基づく蛍光プローブ設計法の確立

主としてフルオレセイン誘導体の構造展開研究から、同誘導体の蛍光特性が光誘起電子移動により制御可能であることを示し、その自由エネルギー変化及び電子移動速度を物理化学的に精密に決定する手法が確立できた(浦野、*JACS*, 2003)。その結果創製した活性酸素種に特異的検知蛍光プローブ、HPF 及び APF は 2003 年 8 月より市販に供され、多くの研究者によって利用されている。

上記 HPF 及び APF は、前頁に記載した、Am80 の白血病治療薬としての承認申請、TAC-101 の固形癌治療臨床試験、とともに、市場に出し得た創製化合物として特記できるものと考えている。

また、本研究課題で生み出された多くの活性化合物は、リクエストに応じて国内外の多くの研究者に供与している。

研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(発表予定のものを記入することも可能。)  
の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会  
等における発表状況について記入してください。)

**Y. Hashimoto:** Structural development of biological response modifiers based on thalidomide. *BioMed. Chem.*, 10(3): 461-479 (2002).

B. Takahashi, K. Ohta, E. Kawachi, H. Fukasawa, **Y. Hashimoto, H. Kagechika:** Novel retinoid X receptor antagonists. Specific inhibition of retinoid synergism in RXR-RAR heterodimer actions. *J. Med. Chem.*, 45(16): 3327-3330 (2002).

T. Shindo, I. Manabe, Y. Fukushima, K. Tobe, K. Aizawa, S. Miyamoto, K. Kawai-Kowase, N. Moriyama, Y. Imai, H. Kawakami, H. Nishimatsu, T. Ishikawa, T. Suzuki, H. Morita, K. Maemura, M. Sata, Y. Hirata, M. Komukai, **H. Kagechika, T. Kadowaki, M. Kurabayashi, R. Nagai:** Krüppel-like zinc-finger transcription factor KLF5/BTEB2 is a target for angiotensin II signaling and an essential regulator of cardiovascular remodeling. *Nature Med.*, 8(8): 856-863 (2002)

T. Ishioka, **A. Tanatani, K. Nagasawa, Y. Hashimoto:** Androgen antagonists with full antagonistic activity toward human prostate tumor LNCaP cells with mutated androgen receptor. *BioMed. Chem. Lett.*, 13(16): 2655-2658 (2003).

M. Suizu, Y. Muroya, H. Kakuta, **H. Kagechika, A. Tanatani, K. Nagasawa, Y. Hashimoto:** Cyclooxygenase inhibitors derived from thalidomide. *Chem. Pharm. Bull.*, 51(9): 1098-1102 (2003).

**Y. Hashimoto:** Structural development of biological response modifiers based on retinoids and thalidomide. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2(6): 543-551 (2003).

H. Kakuta, **A. Tanatani, K. Nagasawa, Y. Hashimoto:** Specific nonpeptide inhibitors of puromycin-sensitive aminopeptidase with a 2,4(1*H*,3*H*)-quinazolinedione skeleton. *Chem. Pharm. Bull.*, 51(11): 1273-1282 (2003).

**Y. Hashimoto:** Structural development of synthetic retinoids and thalidomide-related molecules. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 52(Suppl. 1): S16-S23 (2003).

Y. Baba, N. Hirukawa, N. Tanohira, **M. Sodeoka:** Structure-based design of highly selective catalytic site-directed inhibitor of Ser/Thr protein phosphatase 2B (calcineurin). *J. Am. Chem. Soc.*, 125(32): 9740-9749 (2003).

**Y. Endo, T. Yoshimi, C. Miyaura:** Boron clusters for medicinal drug design: Selective estrogen receptor modulators bearing carborane. *Pure Appl. Chem.*, 75(9): 1197-1205 (2003).

**Y. Endo, K. Yamamoto, H. Kagechika:** Utility of boron clusters for drug design. Relation between estrogen receptor binding affinity and hydrophobicity of phenols bearing various types of carboranyl group. *BioMed. Chem. Lett.*, 13(22): 4089-4092 (2003).

M. Iwata, Y. Eshima, **H. Kagechika:** Retinoic acids exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development via retinoic acid receptors. *Int. Immunol.*, 15 (8): 1017-1025 (2003).

N. Miyagawa, T. Homma, **H. Kagechika, K. Shudo, H. Nagai:** Effect of synthetic retinoid, TAC-101, on experimental autoimmune disease. *Pharmacology*, 67(1): 21-31 (2003).

H. Kakuta, Y. Koiso, **K. Nagasawa, Y. Hashimoto:** Fluorescent bioprobes for visualization of puromycin-sensitive aminopeptidase in living cells. *BioMed. Chem. Lett.*, 13(1): 83-86 (2003).

T. Miura, **Y. Urano, K. Tanaka, T. Nagano, K. Ohkubo, S. Fukuzumi:** Rational design principle for modulating fluorescence properties of fluorescein-based probes by photoinduced electron transfer. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(28): 8666-8671 (2003).

K. Setsukinai, **Y. Urano, K. Kakinuma, H. J. Majima, T. Nagano:** Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species. *J. Biol. Chem.*, 278(5): 3170-3175 (2003).

**Y. Hashimoto, A. Tanatani, K. Nagasawa, H. Miyachi:** Thalidomide as a multi-target drug and its application as a template for drug design. *Drugs Future*, in press.

J. Shimokawa, K. Shirai, **A. Tanatani, Y. Hashimoto, K. Nagasawa:** Enantioselective total synthesis of batzelladine A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, in press.

Y. Kato, Y. Nakano, H. Sako, **A. Tanatani, H. Kobayashi, R. Shimazawa, H. Koshino, Y. Hashimoto, K. Nagasawa:** Synthesis of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-26,23-lactams (DLAMs), a novel series of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> antagonist. *BioMed. Chem. Lett.*, submitted.

R. Shimazawa, H. Sano, **A. Tanatani, H. Miyachi, Y. Hashimoto:** Nitric oxide synthase-inhibitory activity of thalidomide and its analogs. *Chem. Pharm. Bull.*, submitted.

他、本研究課題の成果発表として、国際誌 29 編、国内誌 12 編。代表・分担者本人による、国際学会招待講演 15 回、国内学会招待講演 20 回、セミナー等招待講演 11 回 (うち国外 2 回)。