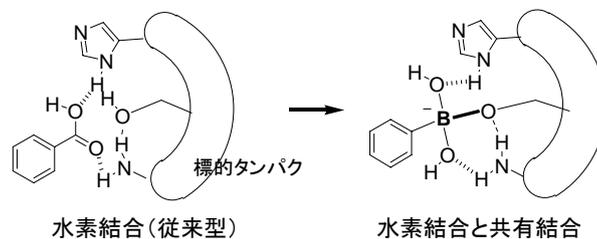


ホウ素を基軸とした創薬アプローチ

学習院大学 中村 浩之

1. はじめに

2003年にヒトゲノムの解析が終わり、いよいよポストゲノムの時代に入った。様々な疾病に関するメカニズムが分子レベルで解明されつつあり、それらを分子標的とした創薬研究が活発になってきている。医薬開発においては、新規骨格をもつ生物活性物質の発見が開発の糸口となるが、これらは主に天然有機化合物や偶然の活性発見によって見出されてきた。開発されてきた医薬品のほとんどは生体内に存在する元素、すなわち水素、炭素、窒素、酸素、硫黄、リンなどによって構築されており、様々な受容体タンパクと水素結合を介して相互作用している。既存の医薬にはない体内動態、特徴的活性を有する医薬の創製には、これまでの研究とは異なる発想が必要であり、医薬素材として生体内には存在しない元素の利用はその有望なアプローチの一つであると考えられる。我々は、「ホウ素」元素を医薬素材の一つとして新たに官能基に加え、薬物分子設計を行ってきた¹⁾。ホウ素は、空の2p軌道を有するため、ドナー分子と共有結合により相互作用できることから、ホウ素を薬物分子設計に組み込むことで標的タンパクへ水素結合と共有結合の相互作用による新しい生物活性が期待できる。また、天然におよそ20%存在するホウ素¹⁰は中性子捕捉断面積が大きいことから、中性子捕捉がん治療に用いられてきた。本講演では、ホウ素が持つこの2つの特徴をそれぞれ活かした縁者らの最近の創薬アプローチについて紹介する。



Scheme 1. 期待される相互作用

2. EGFR チロシンキナーゼを分子標的としたホウ素-キナゾリン化合物の分子設計

近年、様々な細胞増殖因子受容体が発見され、その増殖シグナル伝達系が明らかとなっていった。その中でも、多くのガン細胞に共通に見られるチロシンキナーゼはガン細胞では常に活性化されており自律性の増殖が起こっているため、このシグナル伝達を阻害することでガン細胞の増殖を抑制できると考えられる。1994年、Fryらは、4-アニリノキナゾリン(PD 153035)が増殖因子受容体の一つである上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼに特異的に阻害活性を示すことを初めて明らかにし、2002年7月にはその誘導体であるイレッサが認可された²⁾。さらに4-アニリノキナゾリン誘導体(ZD 6474, KN 1022)が血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFR)や他のキナーゼに阻害活性を示すことが明らかにされてきた。

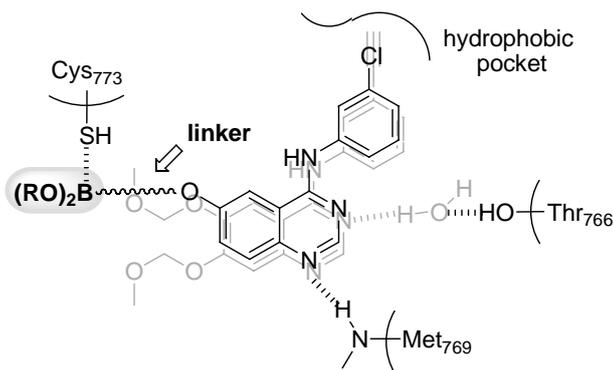
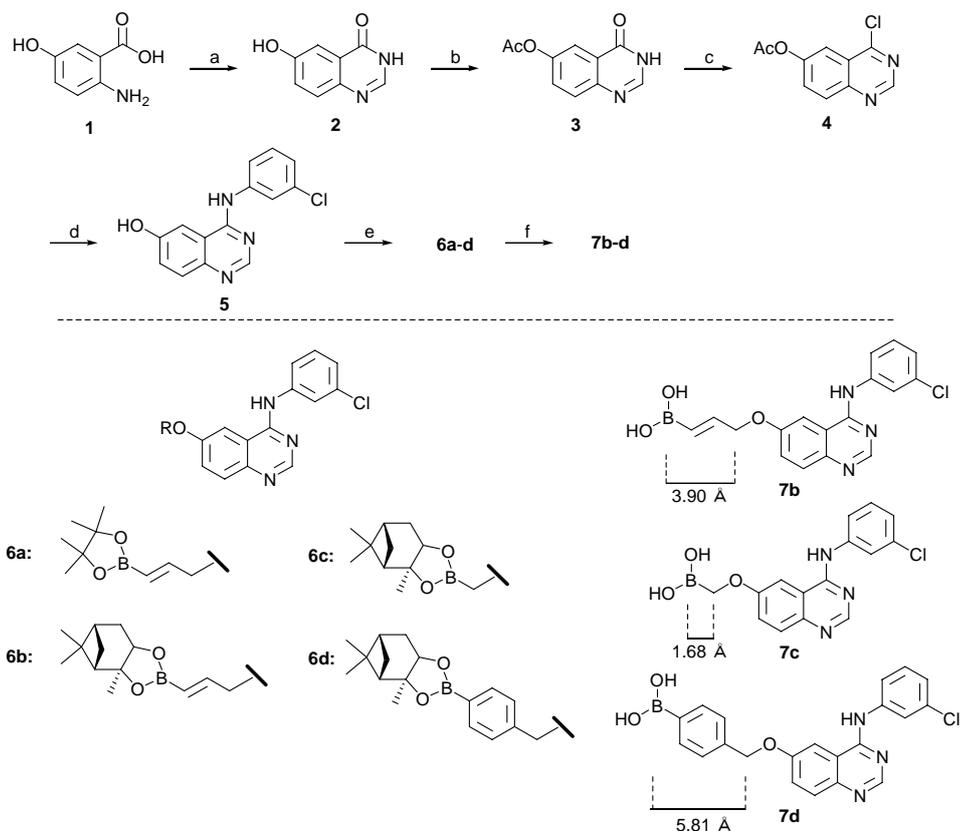


Figure 1. EGFR キナーゼドメインと Tarceva (灰色) の X 線共結晶構造に基づく
ホウ素キナゾリン化合物の分子設計 (黒色)

我々は、これらのチロシンキナーゼ阻害剤に共通しているキナゾリン骨格に着目した^{3,4)}。Tarceva と EGFR キナーゼの X 線結晶構造解析から、キナゾリン環の N1 窒素原子が酵素領域のメチオニン-769 アミドの窒素原子と、キナゾリン環の N3 窒素原子はスレオニン-766 側鎖と水分子を介してそれぞれ水素結合している。そこでキナゾリン環の 6 位へのホウ酸基導入を行い、共有結合性相互作用による非可逆的チロシンキナーゼ阻害剤の開発を検討した。



Scheme 2. Reagents and conditions: (a) i. ClCO_2Et , ii. PBr_3 , iii. NH_2CHO , 70%; (b) Ac_2O , 95%; (c) POCl_3 , 66%; (d) 3-chloroaniline, NH_3 , quant; (e) i. NaH , ii. boronic ester; (f) KHF_2 , 18-28%.

様々な増殖因子受容体チロシンキナーゼ、EGFR、HER2、FLT-1 (VEGFR1)、KDR (VEGFR2) に対するタンパクレベルでの酵素阻害活性について調べたところ、化合物 **6c** および **7b** で EGFR に対し、選択的に高い阻害活性が見られた ($IC_{50} = 0.19, 0.28 \mu M$)。

さらに、A431 細胞に対する非可逆的相互作用を調べた。化合物 **6c**, **7b**, **7d** をそれぞれ A431 細胞に 5 時間インキュベートした後、新しい培地と交換したもの (wash) としないもの (no wash) それぞれに対して、EGF で刺激後ウェスタンブロッティングにより、EGFR のリン酸化を調べた。その結果、化合物 **7d** において、新しい培地と交換した後も、リン酸化阻害能が見られた。同様の非可逆的相互作用は、細胞成長阻害でも見られ、新しい培地と交換した後も、細胞成長阻害活性を有していることがわかった。

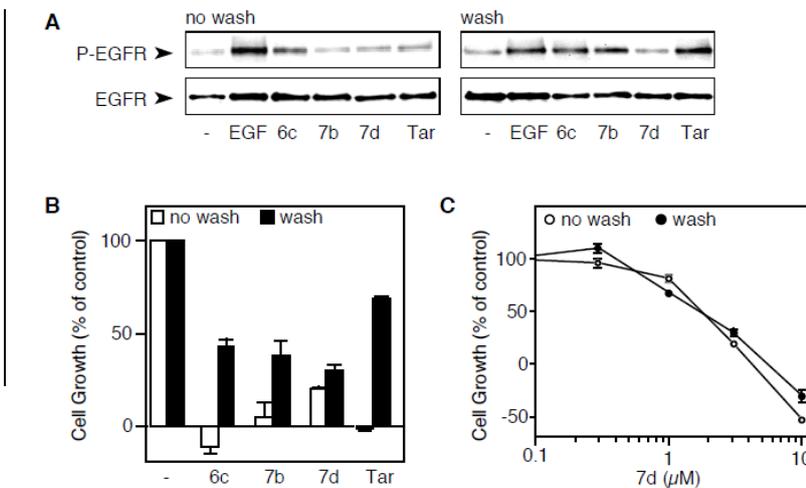


Figure 2. (A) EGF 刺激による EGFR の非可逆的リン酸化阻害、(B) 細胞増殖阻害、(C) 化合物 **7d** の濃度依存的細胞成長阻害

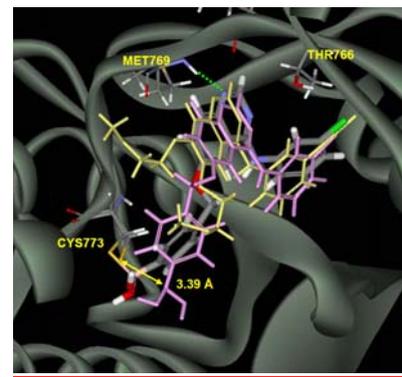


Figure 3. EGFR キナーゼ活性部位への化合物 **7d** (桃色) と Tarceva (黄色) の結合様式

EGFR キナーゼドメインと Tarceva の X 線共結晶構造を元に化合物 **7d** のドッキングシミュレーションを行い、予想される結合様式を計算したところ、Figure 3 に示すようにホウ酸基が CYS773 の近傍 3.39 Å に位置していることが分かった。このことから、チオール基とホウ酸基が構造変化し、共有結合したため、非可逆的相互作用が見られたのではないかと推測する。

3. ホウ素ナノカプセルの開発と中性子捕捉治療 (BNCT)

低エネルギーの熱中性子はエネルギーの高い高速中性子とは異なり、人体には無害である。しかしながら熱中性子とホウ素 10 との反応は、リチウムとヘリウム (α 線) を生じ、これらのエネルギーは 2.79 MeV とおよそ細胞 1 つを殺傷するのに十分であり、その飛程は細胞 1 つの直径 (5~9 μm) である (式 1)。したがって、予めホウ素分子をがん細胞にのみ選択的に取り込ませそこへ中性子照射を行えば、がん細胞のみを選択的に破壊することができる。ホウ素 10 を含む分子を如何にしてがん細胞にのみ選択的に高濃度で送り込むかが治療効果の決め手となる。



現在、熱中性子は原子炉から得ているが、加速器から十分な熱中性子が得られるようになれば、都市型病院への併設が可能となることから BNCT は放射線療法の 1 つとして一般に普及することが期待される。この病院併設型加速器 BNCT の開発が NEDO「次世代 DDS 型悪性腫瘍治療システムの開発」事業により進められている（平成 17 年度～19 年度）⁵⁾。本プロジェクトにおいて腫瘍内ホウ素濃度が 30 ppm 以上でなおかつ腫瘍/血液のホウ素濃度比ならびに腫瘍/正常組織のホウ素濃度比が 10 以上を達成するために、我々が進めている新しいホウ素デリバリーシステムについて紹介する。

ドラッグデリバリーシステム（DDS）で用いられるリポソームは生体脂質二分子膜と同じ組成からなる。我々は、2 本の長鎖脂肪酸エステル部位を有するホスファチジルコリン脂質に着目し、その水溶性部位にホウ素イオンクラスターを導入することでホウ素脂質の合成に成功した⁶⁻⁸⁾。また、これらのホウ素脂質を用いてホウ素ナノカプセルを合成し、実際に担がんマウスへの中性子捕捉治療効果を検討したところ、4 匹中 2 匹のマウスのがんが消失した。

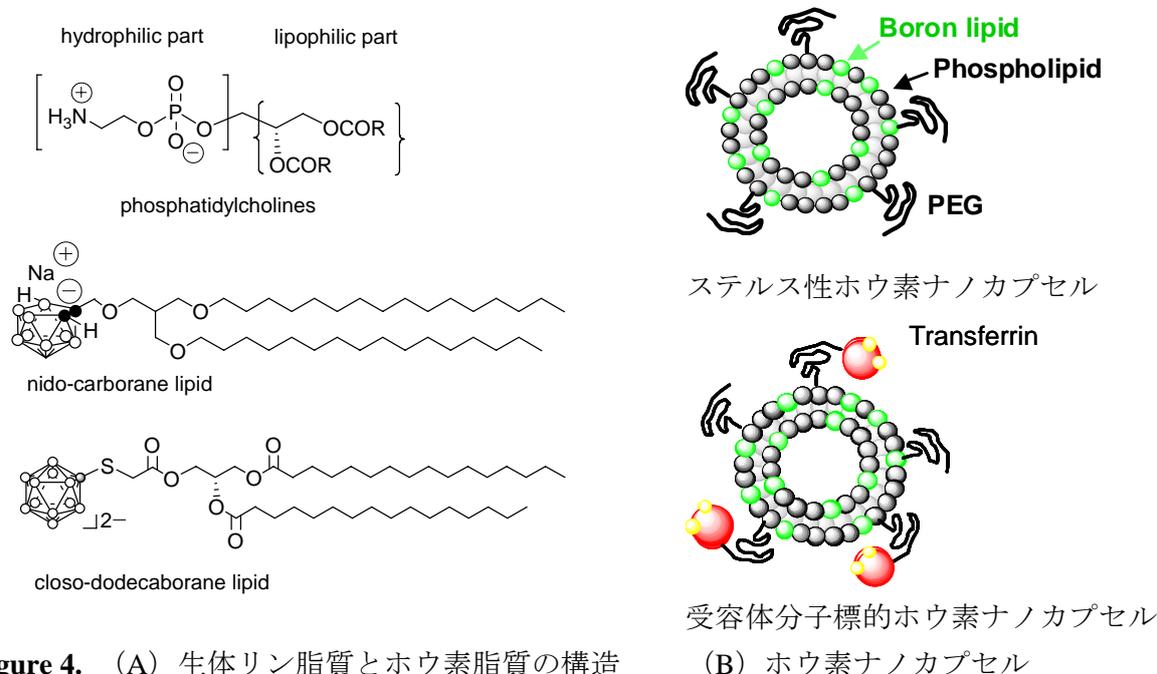


Figure 4. (A) 生体リン脂質とホウ素脂質の構造

<参考文献>

- 1) Nakamura, H.; Kuroda, H.; Saito, H.; Suzuki, R.; Yamori, T.; Maruyama, K.; Haga, T. *ChemMedChem*, **2006**, *1*, 729.
- 2) 中村浩之, *ファルマシア, 最前線*, **2005**, 749-753.
- 3) Nakamura, H.; Onagi, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2539.
- 4) Usui, T.; Ban, H. S.; Nakamura, H. *submitted*.
- 5) プロジェクト技術組合のホームページ <http://wwwa.jnc.ne.jp/ffid0000/>
- 6) Nakamura, H.; Miyajima, Y.; Takei, T.; Kasaoka, S.; Maruyama, K. *Chem. Commun.* **2004**, 1910.
- 7) Miyajima, Y.; Nakamura, H.; Kuwata, Y.; Lee, J.-D.; Masunaga, S.; Ono, K.; Maruyama, K. *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 1310.
- 8) Lee, J.-D.; Ueno, M.; Miyajima, Y.; Nakamura, H. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 323.