

学位論文題名

アロマターゼ阻害活性を有する新規なトリアゾール誘導體
(4-[N-(4-bromobenzyl)-N-(4-cyanophenyl) amino]-
-4H1,2,4-triazole)の薬理学的研究

学位論文内容の要旨

近年、食習慣の欧米化や女性の社会進出に伴い晩婚化や小子化が進んでいるが、同時に乳癌や子宮内膜症の罹患率も増加している。これらの疾患はエストロゲン依存的に増殖することが知られ、これら疾患の患者数増加の背景には食習慣の欧米化あるいは出産年齢の高齢化や妊娠・分娩回数の減少による月経回数の増加による女性のホルモン環境の変動があげられる。これらの疾患に対してエストロゲンの働きを遮断するエストロゲン産性抑制薬や受容体拮抗薬が広く用いられ、その有用性も臨床の場で確認されてきた。一方、これらの薬剤の問題点も明らかとなってきた。タモキシフェンは本来はエストロゲンの受容体拮抗薬であるがその弱いアゴニスト活性により子宮内膜癌の発生頻度の増加が報告されている。GnRH製剤は投与開始時に起こる一過性の過剰刺激によりエストロゲン産生の亢進を起こし、病態の増悪を招く一方、持続的な投与によりGnRH受容体の枯渇をまねき人工閉経へと導く。この閉経レベルまでのエストロゲン産生の低下は骨量減少等の副作用を起こし投与期間が制限されている。これに対してGnRH製剤による副作用を緩和する目的でエストロゲンを少量づつ投与することが試みられ、副作用の緩和と十分な治療効果が認められ、エストロゲンに対する感受性が組織により異なることが示唆されている。このような背景からエストロゲン産生を用量依存的にコントロール可能なエストロゲン生合成酵素の阻害薬が望まれてきた。アロマターゼは卵巣、脂肪あるいは乳癌組織等に存在し、アンドロゲンを基質としてエストロゲンの生合成の最終反応を触媒する酵素である。従って、強いアロマターゼ阻害活性を有し、かつ高いアロマターゼ選択性を有する薬剤は閉経前及び閉経後女性のエストロゲン依存性疾患の治療薬として期待される。アロマターゼは活性中心にヘム鉄を持つシトクロームP-450系酵素であることからヘム鉄に親和性を持つアゾール骨格を有する化合物の構造修飾の結果CGS16949A、CGS20267、R76713およびYM511等のアロマターゼ阻害薬が見いだされた。

本研究ではYM511のアロマターゼ阻害活性およびその特異性について他のアロマターゼ阻害薬を対照に比較検討した。更に、乳癌由来細胞やラット乳腺腫瘍モデルでの増殖活性に対するYM511の阻害作用を検討し、加えて、ラット子宮内膜症モデルでの移植内膜片の増殖抑制作用を検討した。

YM511はラット卵巣及びヒト胎盤ミクロソーム中のアロマターゼ活性を阻害し、その際の IC_{50} 値はそれぞれ0.4及び0.12 nMであり、対照薬としたCGS16949A、CGS20267及びR76713に比べて約3倍強い阻害活性を示した。更にYM511はPMSG刺激によるラット卵巣エストロジオール産生を抑制した(ED_{50} = 0.002 mg/kg)。YM511は雌性ラッ

トの血中エストラジオール濃度を卵巣摘出レベルまで低下させ、2週間の1 mg/kgの投与によりラットの子宮重量を卵巣摘出レベルまで低下させた。更にYM511のラット副腎細胞からのアルドステロン産生、ウサギ副腎細胞からのコルチゾール産生及びラット精巣細胞からのテストステロン産生阻害活性はアロマターゼ阻害活性の約1/5500~1/130000と極めて弱いものであった。ラットあるいはモルモットの血中アルドステロン及びコルチゾール産生に対してYM511は100 mg/kgの用量まで有意な抑制作用を示さなかった。従って、YM511は卵巣摘出に匹敵する血中エストロゲン濃度の低下作用を示し、かつエストロゲン以外の他のステロイドホルモン産生を抑制しない特異的なエストロゲン産生阻害薬であることが示された。

乳癌の治療薬としてのYM511の可能性を検討するためにヒト乳癌細胞株MCF-7に対する作用を検討した。YM511はMCF-7のアロマターゼ活性、テストステロンによる細胞増殖およびDNA合成をいずれも阻害し、それぞれの IC_{50} 値は0.2、0.13及び0.18 nMであり、対照のCGS16949Aに比べ約3~5倍強い阻害強度を示した。また、YM511はテストステロンによるエストロゲン応答領域の転写亢進を阻害し($IC_{50}=0.36$ nM)、その阻害強度はアロマターゼ活性阻害強度とほぼ一致した。一方、YM511はエストロゲンによるMCF-7の増殖を100 nMまで阻害しなかったことからエストロゲン受容体拮抗作用および細胞障害性に伴う増殖阻害活性は極めて弱いことが示された。従って、YM511はアロマターゼ活性を阻害し、アンドロゲンからのエストロゲン産生を抑制した結果、MCF-7の増殖が阻害されたことが明らかとなり、乳癌細胞のアロマターゼ活性を阻害することが乳癌の治療において重要であることが示された。

ラットのDMBA誘発乳腺腫瘍に対するYM511の抑制作用を腫瘍の平均体積を指標に検討すると、0.04 mg/kgで有意な増殖阻害作用を示し、0.2及び1 mg/kgでは腫瘍の退縮も認められた。これに対して、CGS16949Aは1 mg/kgで始めて腫瘍の退縮を示した。従って、YM511の乳腺腫瘍抑制作用はCGS16949Aと比べ5倍程度強いものと思われた。更にCGS20267、R76713及びタモキシフェンの乳腺腫瘍抑制強度をCGS16949Aを対照に検討した。CGS20267は0.04 mg/kgで有意に増殖を抑制し、0.2及び1 mg/kgでは腫瘍の退縮も認められた。R76713は0.2 mg/kgで増殖抑制を示し、1 mg/kgで退縮を示した。これに対して、タモキシフェンは0.2 mg/kg以上で腫瘍の増殖阻害作用を示したが、更に25 mg/kgの用量まで増量しても腫瘍の退縮は認められなかった。これらの結果から、YM511を含むアロマターゼ阻害薬は腫瘍の明らかな退縮を引き起こし、現在臨床で主に使用されているタモキシフェンに替わって、アロマターゼ阻害薬の臨床での有用性が期待される。

ラットの腎皮膜下に子宮内膜片を自家移植して作製した子宮内膜症モデルにおいてYM511、卵巣摘出およびGnRH製剤(leuprolide)による子宮内膜片の増殖及びIGF-I発現に対する作用を検討した。YM511(0.1 mg/kg)は投与4日目から子宮内膜片を退縮させ、卵巣摘出同様に速やかな退縮効果を示した。一方、leuprolide(1 mg/rat)は投与15日目まで明らかな退縮効果を示さなかった。また、YM511は用量依存的に子宮内膜片を退縮させ、0.04 mg/kgから有意な退縮効果を示した。これに対して副作用である骨量の有意な減少をYM511は1 mg/kgで始めて示した。以上の結果からYM511は現在臨床で主に使用されているGnRH製剤よりも治療効果の発現が速く、更に骨量減少を引き起こすことなく子宮内膜症の治療ができる可能性が示された。また、子宮内膜片の増殖にはIGF-Iが関与し、更にYM511はIGF-Iの発現を抑制することによって子宮内膜片の増殖を抑制することが本研究において初めて示された。

以上の結果から、YM511は乳癌や子宮内膜症等のエストロゲン依存性疾患の治療薬として期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 長 澤 滋 治
副 査 教 授 野 村 靖 幸
副 査 助 教 授 高 橋 和 彦
副 査 助 教 授 大 熊 康 修

学 位 論 文 題 名

アロマターゼ阻害活性を有する新規なトリアゾール誘導体 (4-[N-(4-bromobenzyl)-N-(4-cyanophenyl) amino] -4H1,2,4-triazole)の薬 理 学 的 研 究

近年、わが国の乳癌や子宮内膜症の患者数が増加傾向にあるが、その背景には食習慣の欧米化あるいは出産年齢の高齢化等による女性ホルモンの環境変化があると指摘されている。特に、乳癌細胞の増殖には女性ホルモン、エストロゲンが重要な働きをすることから、種々の女性ホルモン拮抗薬あるいは女性ホルモン受容体の遮断薬が臨床的にも用いられている。しかし、これらの薬剤には多くの副作用があり、新たな作用機構に基づくエストロゲン調節薬の開発が待たれていた。

エストロゲンは、卵巣、脂肪組織等、種々の組織においてアロマターゼによりアンドロゲンから産生される。従って、アロマターゼに対する特異性の高い阻害物質はエストロゲン依存性の疾患の治療薬として期待される。アロマターゼは活性中心にヘム鉄を持つシトクロムP450系酵素に属する。これまでのアロマターゼ阻害薬の多くは基質のアンドロゲンの構造類似化合物で、経口吸収性が低く、体内動態が不安定など多くの難点があった。一方、ヘム鉄部位に対する親和性を示すアゾール化合物の誘導体は安定であるが、酵素に対する選択特異性が低いという難点があった。本研究では、種々のアゾール化合物を合成し、本論文題名のトリアゾール誘導体、以下YM511と略、が極めて優れたアロマターゼ阻害剤であることを明らかにした。

本論文は、4章からなる。

第1章では、YM511と命名したトリアゾール系の非ステロイド型アロマターゼ阻害薬について、そのエストロゲン産生阻害作用をin vitroならびに度が用量依存的に減少することや、雌ラットの子宮重量も減少すること、他のホルモン産生に対する影響は無視できることなどを明らかにした。

第2章では、YM511によるヒト乳癌細胞 (MCF-7)の増殖抑制作用を解析した。YM511は乳癌細胞のアロマターゼを阻害することにより、エストロゲン産生を抑制し、その結果として乳癌細胞の増殖が抑制されることを明らかにした。

第3章では、発癌物質であるアントラセン誘導体のDMBAをラットに投与し、乳腺腫瘍を発生させ、その増殖に対する抑制効果を対照薬と比較検討した。その結果、YM511は増殖抑制効果を示すばかりでなく、腫瘍の退縮効果もあることを見いだした。このような効果は、対照薬では観察されないことであり、YM511の特筆すべき治療効果といえる。これは、YM511が乳癌治療薬として有望な化合物であることを意味している。

第4章では、ラット子宮内膜モデルを用いて、YM511の治療効果やイスリン様増殖因子 (IGF-I)の遺伝子発現に対する効果を調べた。対照薬は血中エストロゲン濃度を極端に低下させ、濃度コントロールが難しい。エストロゲン濃度を子宮内膜の増殖抑制レベル以下にすると、骨量の減少がおり、骨粗鬆症と同様な骨障害を招くことが知られている。これに対して、YM511は血中のエストロゲン濃度のコントロールが容易な化合物であり、骨量に変化をもたらさない状態で子宮内膜を萎縮させるエストロゲン濃度を維持することが可能な事が示された。これは、YM511が治療薬として極めて安全性の高いものになることを示唆する結果である。

以上の論文内容は、学術的にも社会的にも極めて価値有るものであり、博士 (薬学) の学位を受けるに値する業績と評価した。