

論文内容の要旨

論文提出者氏名 古徳将之

論文題目

Discovery of the Second Generation ROR γ Inhibitors Composed of an Azole Scaffold

論文内容の要旨

炎症性サイトカイン IL-17 を産生する第 3 のヘルパー T(Th)細胞として、2005 年に Th17 細胞が見出された。翌年、核内受容体である ROR γ (retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma) が Th17 細胞の分化・活性化のマスターレギュレーターとして機能することが報告された。よって、この働きを阻害する ROR γ 阻害剤が様々な自己免疫疾患の治療薬になるのではないかと考えられた。

我々のグループが以前に見出した第一世代の ROR γ 阻害剤である化合物 1 は、ヒト ROR γ ルシフェラーゼ (LUC) レポーターアッセイにおいて 10^{-8} M オーダーの活性を示した。一方、生体内での効力は ED₅₀ 値が 30 mg/kg と満足のいくものではなかった。我々は、①薬物動態 (PK) プロファイルの改善 (マイクロソーム代謝安定性を指標)、②細胞系における活性の更なる向上に焦点を当てた構造最適化研究を実施した。

ROR γ のリガンド結合ポケットは疎水性が高いため、ポケット外側の溶媒方向に向けて極性置換基を導入することにより、代謝安定性の改善を目指した。第一世代の阻害剤と ROR γ との複合体 X 線共結晶構造解析により、極性置換基の導入位置として化合物 1 のプロパノイル部位が適していると考えられた。様々な極性置換基を検討した結果、アルキルアミンおよびアルカン酸の導入によって代謝安定性の向上が確認された。しかし、これらの化合物では LUC アッセイにおける活性の低下または消失が認められた。

この原因として、化合物全体の脂溶性低下が考えられた。周辺化合物の活性データにより、化合物の脂溶性の指標である Log D 値が 3.3 を下回ると活性が消失することが確認された。そこで、骨格部位をトリアゾールからより脂溶性の高いイソキサゾールへ変換し、分子全体の脂溶性バランスを調整した。新たに合成したイソキサゾール骨格の化合物では、LUC アッセイにおける活性と代謝安定性の両立が達成できた。

活性及び代謝安定性のさらなる向上を目的として、分子のその他の部位についても構造変換を行なった。イソキサゾールに隣接するベンゼン環について、各種ヘテロ環への変換を検討した結果、3,5-二置換イソキサゾールが最もバランスの取れた構造であることがわかった。末端アルキル基としては、代謝安定性の面から分岐フッ化アルキル基が最適であった。さらに、アニリン部位のベンゼン環上に複数のハロゲン基を導入することで、LUC アッセイにおいて 10^{-9} M オーダーの活性を達成した。

代表化合物 2 を用いて、CD3 誘導マウス PD モデルを用いた *in vivo* 薬理評価を実施した。ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質 (MOG)、完全フロイントアジュバント (CFA)、百日咳毒素 (PTX) でマウスに 5 日間感作を行なった。化合物 2 を経口投与し、抗 CD3 抗体による再刺激の 2 時間後に血中 IL-17 濃度を測定した。化合物 2 の経口投与 8 時間後における ED₅₀ 値は 3 mg/kg と算出され、本 PD モデル

では化合物 1 に比べて約 10 倍の改善が見られた。さらに本化合物の有用性を確認するため、IL-23 誘発マウス皮膚炎モデルにおける効果を評価した。マウス IL-23 を 1、5、8、10 日目にマウスの左耳に皮内注射した。化合物 2 を 1 日 1 回経口投与して耳の厚さを測定したところ、化合物投与群で有意な耳の腫れの減少が認められた。

化合物 2 の結合構造を X 線共結晶解析で確認したところ、代謝安定性向上に寄与したカルボン酸部位は、予想通りポケットの外側に向いていることが確認された。化合物 2 は他の核内受容体に対する高い選択性を示した (EC₅₀>20 μ M; hROR α 、mLXR、hRXR、hPPAR δ 、hPPAR γ)。また、時間依存的な CYP 阻害も認められなかった (IC₅₀>50 μ M; hCYP3A4m、hCYP3A4t、hCYP2C9、hCYP2D6、hCYP1A2、hCYP2C19)。以上のことから、化合物 2 は第一世代の ROR γ 阻害剤よりも優れた薬剤プロファイルを持ち、有望な開発候補品となることが示された。