

氏名（本籍）	<small>なかしま ゆたか</small> 中島 豊（熊本県）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	論博第 357 号
学位授与の日付	平成 30 年 3 月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Janus kinase 3 を標的とした新規免疫調節剤の合成研究
論文審査委員（主査）	教授 林 良雄 教授 三浦 剛 教授 松本 隆司 教授 高木 教夫

論文内容の要旨

臓器移植は、機能不全に陥った臓器を他者の健康な臓器に置き換える医療である。臓器移植時には、移植された臓器が非自己として認識されることにより拒絶反応が引き起こされるため、免疫抑制作用を有する薬剤を用いてレシピエントの免疫反応を調節することが必要である。急性期の拒絶反応には、インターロイキン-2 (IL-2) の産生および IL-2 シグナル伝達を介した T 細胞の分化や増殖が深く関与している。カルシニューリン阻害剤を代表とする既存の免疫抑制療法は T 細胞の IL-2 産生を抑制し、T 細胞の分化や増殖を阻害することで強い免疫抑制作用を示し、移植片を長期に生着させる。一方で、現行の免疫抑制療法に用いられる薬剤は、免疫系以外の広範な作用を示すことが課題である。より免疫系に特異的な作用機序に基づく新規免疫調節剤を創製できれば、現行の薬剤を代替することや、併用効果により使用する薬剤投与量を減量させることが期待できる。

Janus kinase 3 (JAK3) は細胞質内に存在するチロシンリン酸化酵素であり、サイトカインを介したシグナル伝達に関与し、種々の免疫および炎症性応答を調節している。JAK ファミリーは、JAK1、JAK2、JAK3 および TYK2 から成り、その中で JAK3 は IL-2 シグナル経路を介して、T 細胞の分化および増殖に関与している。また、他の JAK ファミリーが広範な組織に発現していることに対して、JAK3 は血球系細胞に限定的に発現している。したがって、JAK3 阻害は臓器移植時の拒絶反応の抑制に有効であり、既存の薬剤より免疫系に特異性が高い免疫調節作用が期待できる。

これまで JAK 阻害剤としていくつかの化合物が医薬品として開発されている。先行の JAK 阻害剤である tofacitinib は、腎移植試験および関節リウマチの治療において

ヒトでの有効性を示しており、JAK 阻害剤は免疫疾患の治療薬として有用であると考
えられる。さらに、各 JAK ファミリーに対する阻害プロファイルが異なる JAK 阻害
剤 baricitinib、upadacitinib または filgotinib 等も報告されている。現在、臓器移植時の
拒絶反応に対して、JAK 阻害剤の開発は進められていないが、JAK3 阻害に基づく免
疫調節作用は、その作用メカニズムから有効性が高いと考えられた。このような背景
の下、臓器移植時の拒絶反応抑制への適応を目的に、JAK3 を標的とした新規免疫調
節剤の合成研究を行った。

第一章では、キナーゼの ATP 結合部位のヒンジ領域と相互作用可能な 1*H*-ピロロ
[2,3-*b*]ピリジン環を母核とする化合物 **4** が弱い JAK3 阻害活性を有することに着目し、
JAK3 阻害活性が向上した化合物の創出を検討した。化合物 **4** と JAK3 蛋白とのドッ
キング計算解析の結果から、1*H*-ピロロ[2,3-*b*]ピリジン環の C4 位置換基は JAK3 蛋
白の疎水性ポケットと相互作用することが示唆された。また、C5 位周辺には空間許
容性が認められたことから置換基導入の検討を行った。その結果、C5 位へのカルバ
モイル基の導入による分子内水素結合の形成および C4 位への置換シクロアルキルア
ミノ基の導入による疎水性ポケットとの相互作用向上が JAK3 阻害活性の向上に重要
であることが判明し、強い JAK3 阻害活性、JAK1、JAK2 に対して中程度の JAK3 選
択性を有し、IL-2 依存的な T 細胞増殖に対して阻害作用を示す化合物 **12c** の創出に成
功した (Figure 1)。化合物 **12c** をリード化合物として、C4 位のアミノ置換基部分の
構造活性相関および代謝安定性等の薬物動態面に関する知見を得ることにより、1*H*-
ピロロ[2,3-*b*]ピリジン-5-カルボキサミド誘導体が JAK3 阻害活性を有する化合物とし
て有用であることを明らかとした。

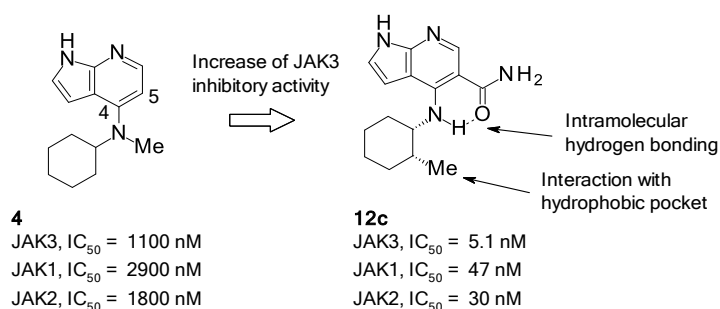


Figure 1. Profiles of 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine derivatives.

第二章では、1*H*-ピロロ[2,3-*b*]ピリジン-5-カルボキサミド誘導体 **12c** に関して、JAK3
阻害活性の向上および薬物動態プロファイルの改善を目的に、C4 位のアミノ置換基
の構造最適化を実施した。化合物 **12c** の主代謝部位であるメチルシクロヘキサン環部
をピペリジン環に変換し、肝ミクロソームに対する代謝安定性の改善を検討した。ま
た、ピペリジン環の N 位への置換基導入により、JAK3 蛋白との相互作用増強による
JAK3 阻害活性の向上を検討した。その結果、N-シアノピリジル-4-アミノピペリジン

構造を有する化合物 **18b** が JAK3 阻害活性の向上および代謝クリアランス値の低下を示すことが明らかとなった。しかし、化合物 **18b** は心機能障害への関与が懸念される hERG 阻害作用を示したことから、分子脂溶性および塩基性の低下による hERG 阻害活性の減弱を検討した。その結果、化合物 **18b** のピペリジン部にフルオロ基を導入することで、強力な JAK3 阻害活性、JAK1、JAK2 に対して約 10 倍の JAK3 選択性および弱い hERG 阻害活性を示す化合物 **37** を創出することができた (Figure 2)。化合物 **37** に関して、フルオロ基の電子求引効果によるピペリジン部の塩基性低下が hERG 阻害活性の減弱に有効であることが示された。化合物 **37** と JAK3 蛋白とのドッキング計算解析において、フルオロ基と疎水性ポケット領域の相互作用およびシアノ基と Arg953 との相互作用が、JAK3 阻害活性の向上に寄与していることが示唆された (Figure 3)。また、化合物 **37** はラット、イヌおよびサルでの薬物動態プロファイルが良好であり、経口投与による免疫調節作用が期待できる化合物であることが示された。

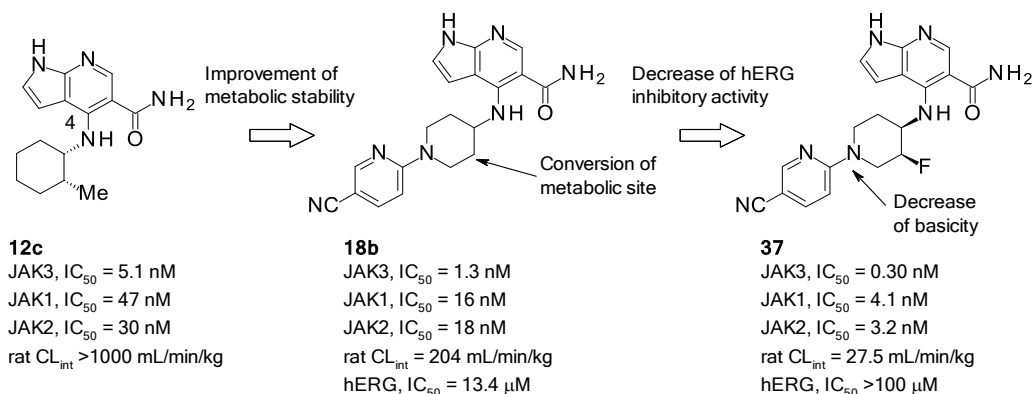


Figure 2. Profiles of 1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridine-5-carboxamide derivatives.

第三章では、JAK3 蛋白のヒンジ領域と相互作用可能な母核構造として、化合物 **18b** の 1*H*-ピロロ[2,3-*b*]ピリジン-5-カルボキサミド構造をミミックした新規 4,6-ジアミノニコチンアミド誘導体をデザインし、C4 位および C6 位の置換基の構造最適化を検討した。4,6-ジアミノニコチンアミド母核部分の平面性を向上させることを目的に、C6 位にピリジン環を導入した結果、化合物 **51b** は強い JAK3 阻害活性を示すことが明らかとなった。一方で、化合物 **51b** は hERG 阻害活性を示すことが課題となったため、分子脂溶性および塩基性の低下による hERG 阻害活性の減弱を検討した。化合物 **51b** の C6 位のピリジン環をメチルピリミジン環に変換し、C4 位のアミノ置換基中のピリジン環をベンゼン環に変

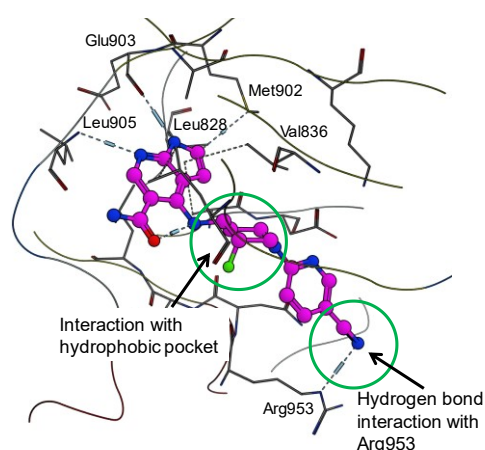


Figure 3. Predicted binding mode of compound **37** to human JAK3.

換することで、強い JAK3 阻害活性、JAK1、JAK2 に対して 4~5 倍の JAK3 選択性および弱い hERG 阻害活性を示す化合物 **64** を創出することができた (Figure 4)。化合物 **64** と JAK3 蛋白とのドッキング計算解析の結果から、母核部分の平面性構造がヒンジ領域との相互作用に重要であることが示唆された (Figure 5)。また、1*H*-ピロロ[2,3-*b*]ピリジン-5-カルボキサミド誘導体と比較して、C3 位のカルバモイル基がヒンジ領域の奥側で相互作用することが示唆された。4,6-ジアミノニコチンアミド誘導体は、母核部分に関してヒンジ領域と新規な相互作用様式に基づき、強い JAK3 阻害活性を示す化合物として有用であることを見出した。

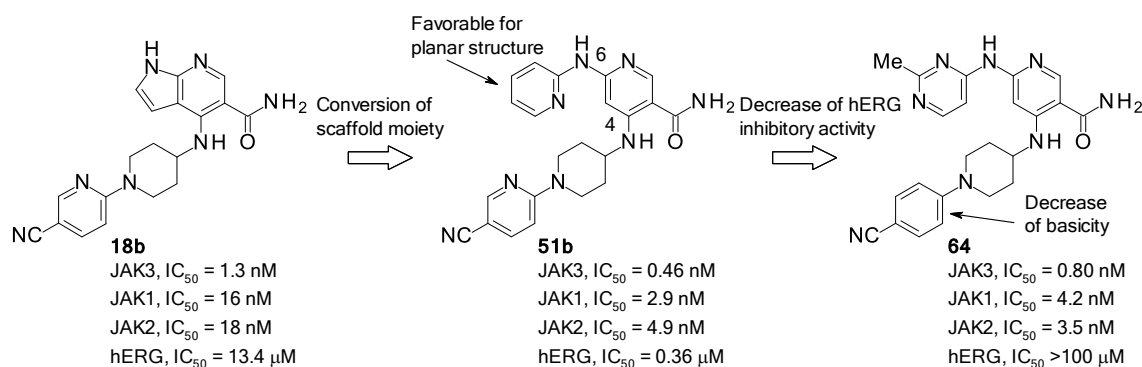


Figure 4. Profiles of **18b** and 4,6-diaminonicotinamide derivatives.

第四章では、1*H*-ピロロ[2,3-*b*]ピリジン-5-カルボキサミド誘導体および 4,6-ジアミノニコチンアミド誘導体の中で強い JAK3 阻害活性を示した化合物 **37** および化合物 **64** をラット心移植モデル試験にて評価した。その結果、化合物 **37** は単剤経口投与にて、用量依存的に生着延長効果を示し、臓器移植時の拒絶反応の抑制に対して有効性を示した (10 mg/kg および 20 mg/kg 投与時の生着期間: 11.5 日および 22 日)。また、化合物 **64** は tacrolimus 併用下での評価において、移植片の生着延長作用を示し、JAK3 阻害作用による相加的効果を確認することができた (10 mg/kg 投与時の生着期間: 22.5 日)。

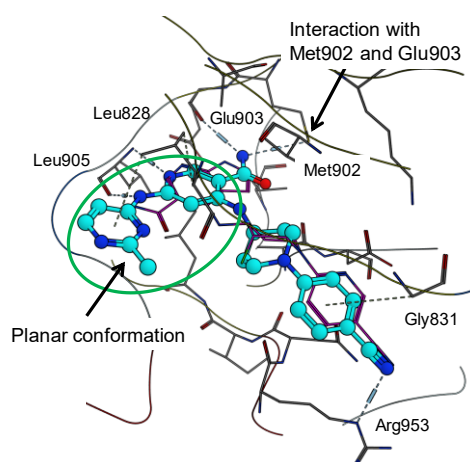


Figure 5. Predicted binding mode of compound **64** and **37** to human JAK3.

本研究において、既存の JAK 阻害剤とは異なる新規な母核構造を有し、JAK3 に対して強い阻害活性を示す複数の化合物を創出することに成功した。特に、化合物 **37** は強力な JAK3 阻害活性、JAK1、JAK2 に対して約 10 倍の JAK3 選択性を示し、薬物動態面においても良好なプロファイルを示した。さらに、ラット心移植モデル試験に

て単剤経口投与での有効性を示したことから、臓器移植時の拒絶反応抑制を適応とした新規な免疫調節剤としての開発が期待できる。本研究成果は今後の JAK3 阻害に基づく免疫調節剤の研究および開発に有用な知見を与えるものである。

【研究結果の掲載誌】

- (1) *Chem. Pharm. Bull.*, **63**, 341-353 (2015).
- (2) *Bioorg. Med. Chem.*, **23**, 4871-4883 (2015).
- (3) *Bioorg. Med. Chem.*, **24**, 4711-4722 (2016).

論文審査の結果の要旨

中島豊氏の学位申請論文は、「医化学」の分野から申請されたもので、Janus kinase 3 (JAK3) を標的とした新規免疫調節剤の合成研究に関するものである。臓器移植は、機能不全に陥った臓器を、他者の健康な臓器に置き換える医療であるが、移植された臓器が非自己として認識されることにより引き起こされる拒絶反応を抑制する薬剤を用いて免疫応答を調節する必要がある。カルシニューリン阻害剤を代表とする現行の免疫療法は、拒絶反応の抑制に対して高い有効性を示す一方で、免疫系以外の広範な作用を示すことが課題となっている。したがって、より免疫系に特異的な作用機序に基づく新規免疫調節剤の創製が求められている。

中島氏が着目した JAK3 は、血球系細胞内に局在するチロシンキナーゼであり、IL-2 シグナル経路を介して T 細胞の分化及び増殖に関与するため、その阻害剤は免疫系に特異的に作用し、臓器移植時の拒絶反応の抑制における上記課題を克服できる免疫抑制剤としての利用が期待されている。このような状況から中島氏は JAK3 を標的とした新規免疫調節剤の合成研究を行い、今般 3 報の学術論文として報告した。本学位申請論文はそれらを纏めたものであり四章からなる。

第一章では、キナーゼの ATP 結合部位ヒンジ領域と相互作用可能な 1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン環を母核とする化合物が、弱い JAK3 阻害活性を有することに着目し、ドッキング計算に基づく構造活性相関研究を実施した。その結果、強い JAK3 阻害活性、中程度の JAK3 選択性、さらに IL-2 依存的 T 細胞増殖の阻害作用を有する 1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-5-カルボキサミド誘導体の創出に成功した。

第二章では、第一章で得られた誘導体の構造を基に、JAK3 阻害活性の更なる向上、薬物動態プロファイルの改善、hERG 阻害作用の減弱等の医薬品創製に必要な項目を検討した。その結果、構造中ピペリジン部へのフルオロ基の導入が強力な JAK3 阻害活性、JAK 1、JAK 2 に対して約 10 倍の JAK3 選択性および減弱した hERG 阻害活性をもたらすことを見だし、新規化合物の創製に至った。このフルオロ基による阻害活性の向上に関しては、別途ドッキング計算により解析し、その合理性を確認している。さらに創製された化合物は、実験動物にて良好な薬物動態プロファイルを示し、経口投与による免疫調節作用が期待できることも明らかにした。

第三章では、阻害活性を示す新たな構造を獲得すべく、1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-5-カルボキサミド構造をミミックする母核構造として、新規 4,6-ジアミノニコチンアミド誘導体をデザインし、化学合成による構造展開を実施した。その結果、強力な JAK3 阻害活性、適度な JAK3 選択性、加えて減弱した hERG 阻害活性を示す新たな JAK3 阻害化合物の創製に成功し、4,6-ジアミノニコチンアミド誘導体が、JAK3 阻害活性を示す化合物として有用であることを示した。

第四章では、第二章、三章で得られた新規 JAK3 阻害剤について、ラット心移植モデルを用い免疫調節剤としての効果を評価した。その結果、これらの化合物は単剤経口投与または tacrolimus との併用投与において、移植片生着延長効果を示した。本結果は、JAK3 阻害剤が臓器移植時の

拒絶反応の抑制に有効であることを示している。これらの研究を通じ、中島氏は良好な薬物動態プロファイルを示す新規なJAK3 阻害剤の創製に至った。

以上、本研究は新規な母核構造を有し、JAK3 に対して強い阻害活性を示す複数の化合物の創出に成功した。特に、創製された1*H*-ピロロ[2,3-*b*]ピリジン-5-カルボキサミド誘導体では、強力なJAK3 阻害活性、JAK3 選択性ととも、ラット異所性心移植モデル試験にて単剤経口投与で有効性を確認できたことから、本剤は臓器移植時の拒絶反応を抑制する新規免疫調節剤としての開発が期待できる。すなわち、博士論文の内容は高い学術水準に達しており、その研究成果は今後のJAK3 阻害に基づく免疫調節剤の研究及び開発に有用な知見を与えるもので、臨床薬学の基盤形成に大きく貢献できる成果と言える。したがって、本論文は博士（薬学）学位申請論文として相応しい内容を有すると判断する。