

インターロイキン-15, 17を標的とする新規抗リウマチ薬Y-320の創製

牛尾, 博之

<https://doi.org/10.15017/1500448>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（薬学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

インターロイキン - 15, 17 を標的とする新規抗リウマチ薬 Y-320 の創製

牛尾 博之

【序論】

関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis: RA) は自己免疫疾患の一種であり、本来は自己を守るべきリンパ球などの免疫細胞が自己組織に対して攻撃を行うことにより発症すると考えられており、炎症の進行とともに軟骨や関節が破壊される重篤な病である。現在の RA 薬物治療法としては、メトトレキサートが第 1 選択薬とされ、さらに抗 TNF- α 抗体などの生物医薬の登場により治療に対する薬剤の貢献度はかなり高まってきた。その一方で、低分子の RA 治療薬は核酸合成阻害作用を有する薬剤が主流のため、その細胞非選択的な作用により骨髄毒性や感染症などの副作用の問題を抱えている。また、生物医薬品は薬価が高く、患者に経済的負担を強いることや感染症の問題などが指摘されている。従って、安全性の高い低分子医薬を創製することができれば、医療上のニーズは今なお高いと考えられる。

近年の研究から、①滑液中に多数の活性化されたリンパ球が浸潤し、②IL-15 がそれらの活性化を担っており、更に活性化リンパ球から③IL-17 が産生され、関節局所での破骨細胞の活性化や炎症性細胞の活性化など炎症の増悪に深く関与していることが明らかとなった。そこで演者は、活性化されたリンパ球、中でも IL-15 依存的なリンパ球の活動を抑制し、かつ既存の RA 治療薬に見られる核酸合成経路阻害作用とは異なるメカニズムを有する低分子医薬品を開発することが出来れば RA 治療薬として有用であると考え、新規抗リウマチ薬の創製研究に着手した。

【リード化合物の発見と合成展開方針の策定】

レフルノマイド (1) は、RA 治療薬における第 1 選択薬であるメトトレキサートを上回る優れた薬理効果を有することで現在最も注目を集めている薬剤の 1 つである。この薬剤は、生体内で活性代謝物 2 に変換され、ピリミジンの *de novo* 合成経路中の dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) を可逆的に阻害することによって、種々の炎症性細胞の活性化を抑制し、関節リウマチを含む自己免疫疾患全般で高い効果を示すことが知られている。その一方で、細胞非選択的な作用により骨髄毒性や肝毒性等が生じることが問題となっている。これに対し、フェニルピラゾールアニリド誘導体 3 は、レフルノマイドと共通の部分構造を有しながら、DHODH を阻害せず、且つ高い免疫抑制効果を示すことが報告された¹⁾。

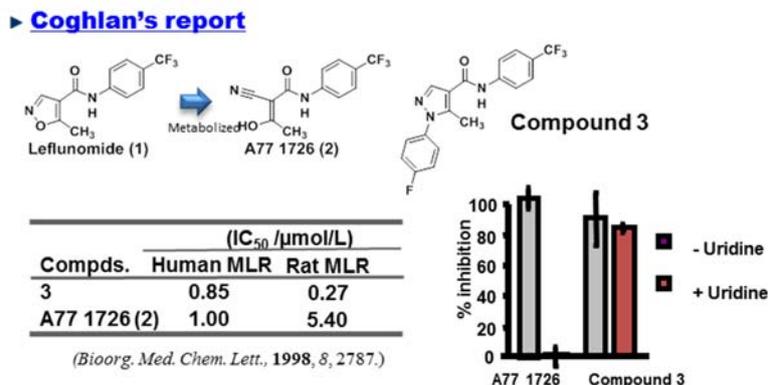


Figure 1. レフルノマイドおよび関連誘導体の作用メカニズムに関する報告¹⁾より改変引用)

そこで、筆者は化合物 3 の環構造に着目し、自社ライブラリーの中からフェニルピラゾール骨格を有する

化合物群を利用して合成展開およびスクリーニングを行うことで「レフルノマイド級の efficacy を有し、且つ DHODH 阻害作用などの核酸生成経路阻害作用に基づかない低分子医薬」が創製できると考え、本研究に着手した。

初期の合成展開により得られた化合物 **9d** は、レフルノマイドと比較して *in vitro* 作用は弱いながらも、*in vivo* (DBA/1J マウスを用いた II 型コラーゲン誘発関節炎に対する作用) では同等な関節炎の抑制効果を示すことが明らかとなった ((a) in Figure 2)。薬物動態試験の結果、化合物 **9d** は生体内で速やかに代謝を受け ((b), (c) in Figure 2)、化合物 **9g** へと変換されて *in vivo* 薬理効果を発現していることが明らかとなった。更に化合物 **9d** および **9g** の *in vitro* 薬理作用は、過剰の uridine を添加しても減弱しなかったことから、A771726 (2) と異なるものであることが示唆された ((d) in Figure 2)。この結果より、アニリンパートの 4 位方向は、*in vitro* 活性を損なうことなく、経口吸収性改善のための置換基修飾 (例えば、水溶性の向上) が可能な部位であると考えられる。

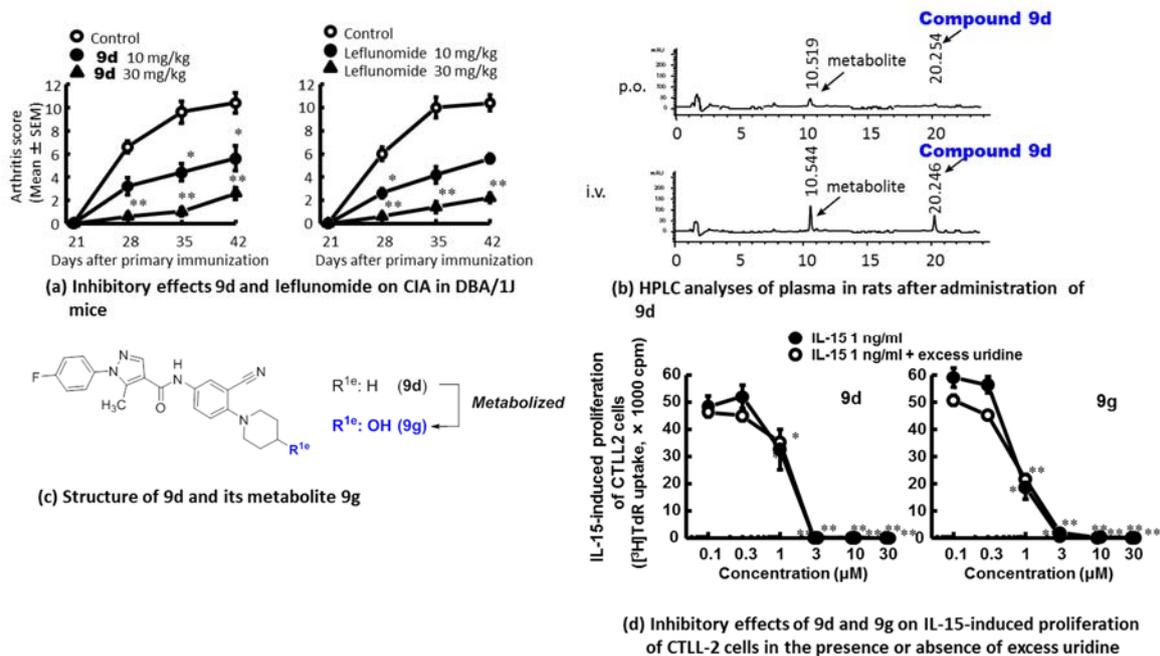


Figure 2. リード化合物 **9g** の発見

筆者は、化合物 **9g** の構造を基に、①**9g** のプロドラッグ化および②高薬理活性でかつ経口吸収性に優れた未変化体の取得を目指してピペラジン誘導体およびピペリジン誘導体の合成展開を行うこととした

【開発候補化合物の探索と選定】

1. プロドラッグ体 **11** の合成

化合物 **9g** に対して、コハク酸無水物を作用させることによりプロドラッグ体 **11** を取得した (Figure 3)。この化合物は、経口投与後速やかに化合物 **9g** に変換されることが薬物動態試験により確認され、また CIA モデルにおいて 10 mg/kg 投与において有意に関節炎を抑制することが明らかとなった。

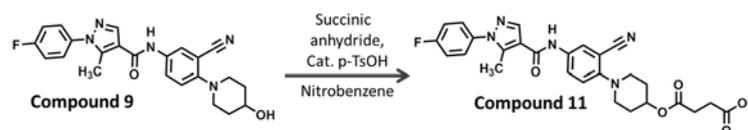


Figure 3. プロドラッグ体 **11** の合成

2. 高薬理活性でかつ経口吸収性に優れた未変化体

2.1 ピペラジン誘導体の合成展開

化合物 **9g** が示すようにアニリンパートの末端に水酸基を有することで活性が向上したことから、4-(2-ヒドロキシピペラジン) 誘導体について合成展開を行った。その結果、強力な *in vitro* 活性を有する化合物 **12f** を取得した (Figure 4)。

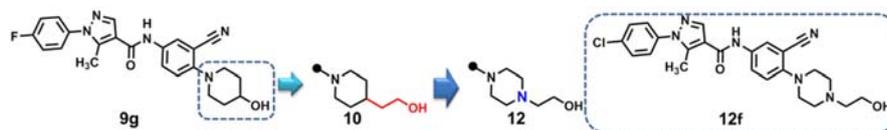


Figure 4. ピペラジン誘導体の合成展開

2.2 ピペリジン誘導体の合成展開

化合物 **9g** のピペリジン環の 4 位を中心に置換基変換することにより、**12f** と同等な *in vitro* 活性を有する化合物 **15e** を取得した (Figure 5)。

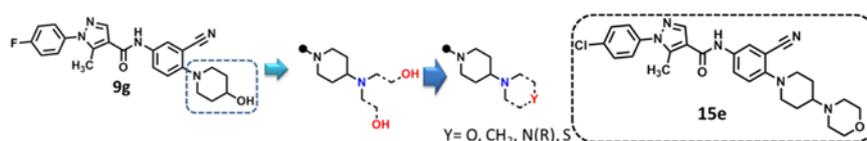


Figure 5. ピペリジン誘導体の合成展開

3 開発候補品の選定

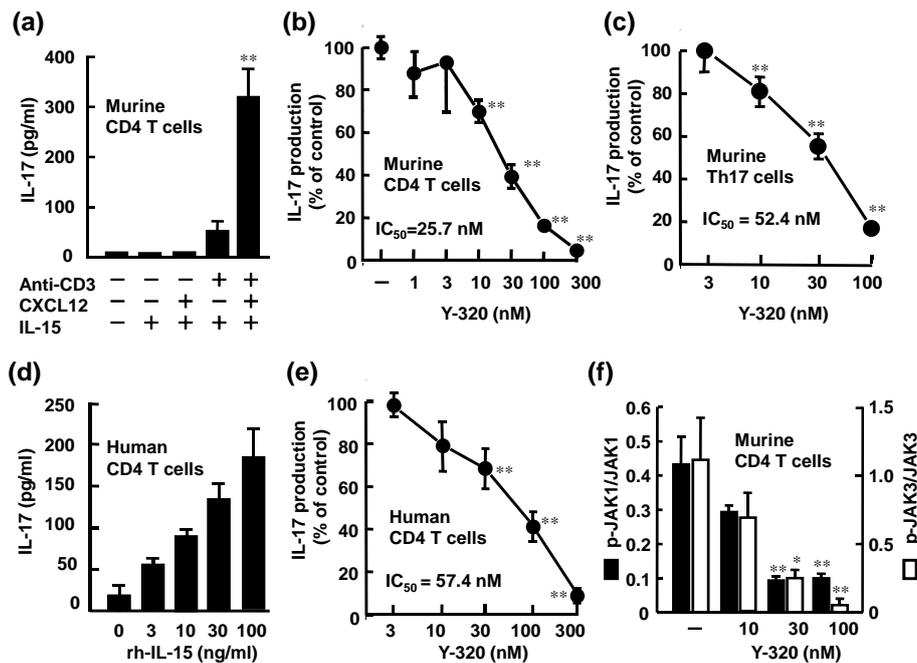
In vivo 薬理効果を比較したところ、化合物 **15e** は 0.3 mg/kg 以上で有意な関節炎の抑制効果を示した。また薬物動態試験において良好な体内動態を示すことが明らかとなった (ラット (BA: 40%), マウス (BA: 100%), カニクイザル (BA: 26.0-52.7%))。特に、**12f** との肝臓内薬物濃度比較において、肝臓への蓄積率が低いことが確認された (Table 1)。以上の結果を踏まえて、化合物 **15e**, 即ち **Y-320** を開発候補品に選定した。

Table 1. Comparison of leflunomide (**1**), **12f**, and **15e** (**Y-320**) efficacy and distribution.

Compd.	Minimal Effective Dose in CIA (mg/kg)	BA in rats (%)	Distribution (C _r /C _p)* (100 mg/kg, p.o.)
Leflunomide (1)	10	-	-
12f	3	28.6	123
15e (Y-320)	0.3	40	14.5

【Y-320 の薬理効果】

Y-320 は、IL-15 刺激の CD4⁺T 細胞の増殖並びに IL-17 の産生を数 10 nM のオーダーで抑制する。また、無刺激の naïve T cell に対してはほとんど作用せず、高い細胞選択性を有することが確認された。**Y-320** の作用メカニズムは、IL-2R あるいは IL-15R の下流にある JAK1/3 の自己リン酸化を何らかの形で抑制することで免疫抑制活性を発現していることが示唆されたが、cell free での kinase assay では阻害作用が確認できなかった。また、naïve T 細胞から Th17 細胞への細胞分化の phase は阻害しないことが確認された。以上の結果から、CD4⁺T 細胞の活性化の phase の中で特異的する未知の標的に作用していると考えられる。また、*In vivo* においては、**Y-320** は良好な薬物動態によりマウス II 型コラーゲン誘発関節炎を 0.3 mg/kg 以上で有意に抑制し、カニクイザル II 型コラーゲン誘発関節炎でも、予め関節炎を発症した状態から **Y-320** を 1 mg/kg 経口投与することにより関節炎の進行を有意に抑制し、且つ投与終了後もリバウンドは観測されなかった (Figure 6)。



Y-320 inhibits IL-17 production by murine and human CD4⁺T cells stimulated with IL-15. (a) rm-IL-15 (100 ng/ml) with rm-CXCL12 and anti-CD3 mAb induces IL-17 production by murine CD4 T cells. (b) Y-320 inhibits IL-17 production by murine CD4⁺T cells stimulated with IL-15/CXCL12/anti-CD3 mAb. (c) Y-320 inhibits IL-17 production by murine Th17 cells (d) rh-IL-15 induces IL-17 production by human CD4⁺T cells. (e) Y-320 inhibits IL-17 production by human CD4⁺T cells stimulated with IL-15 (100 ng/ml). (f) Y-320 inhibits phosphorylation of JAK1/JAK3 in murine CD4⁺T cells stimulated with IL-15/CXCL12/anti-CD3 mAb. Results were expressed as the mean \pm SEM of triplicated determination. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Dunnett's multi-comparison test)

Figure 6. Pharmacological profiles of Y-320

【結論】

以上のことから、Y-320は、関節リウマチを含め、活性化リンパ球およびIL-17が関与する自己免疫疾患に対し高い有効性を示すことが期待される。

【引用文献】

1) Coghlan, M. J. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2787-2792.

【発表論文】

- Hiroyuki Ushio, Seigo Ishibuchi, Kunitomo Adachi, Kouichi Oshita, and Kenji Chiba. Phenylpyrazole-anilides as a Potent Inhibitor of IL-15 Dependent T Cell Proliferation. Part 1: A New Class of Orally Available Immunomodulators. *Letters in Drug Design & Discovery* **2008**, *5*, 111-115.
- Hiroyuki Ushio, Seigo Ishibuchi, Kunitomo Adachi, Kouichi Oshita, and Kenji Chiba. Phenylpyrazole-anilides as Potent Inhibitor of IL-15 Dependent T cell Proliferation. Part 2: Discovery of a New Drug Candidate, Y-320. *Letters in Drug Design & Discovery* **2008**, *5*, 292-296.
- Hiroyuki Ushio, Seigo Ishibuchi, Kouichi Oshita, Noriyasu Seki, Hirotohi Kataoka, Kunio Sugahara, Kunitomo Adachi, and Kenji Chiba. A New Phenylpyrazole-anilide, Y-320, Inhibits Interleukin 17 Production and Ameliorates Collagen-Induced Arthritis in Mice and Cynomolgus Monkeys. *Pharmaceuticals* **2014**, *7*, 1-17.