

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |                                                                                                                                                                                                |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 題目(和文)            | 新規アルドステロン合成酵素阻害薬の同定および心不全モデルを用いた薬効評価                                                                                                                                                           |
| Title(English)    |                                                                                                                                                                                                |
| 著者(和文)            | 古園信二                                                                                                                                                                                           |
| Author(English)   | Shinji Furuzono                                                                                                                                                                                |
| 出典(和文)            | 学位:博士(工学),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第10503号,<br>授与年月日:2017年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:田川 陽一,丸山 厚,近藤 科江,秦 猛志,林 宣宏                                                                           |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Engineering),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第10503号,<br>Conferred date:2017/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,, |
| 学位種別(和文)          | 博士論文                                                                                                                                                                                           |
| Category(English) | Doctoral Thesis                                                                                                                                                                                |
| 種別(和文)            | 論文要旨                                                                                                                                                                                           |
| Type(English)     | Summary                                                                                                                                                                                        |

論文要旨

THESIS SUMMARY

|                         |          |    |                                             |                     |
|-------------------------|----------|----|---------------------------------------------|---------------------|
| 専攻：<br>Department of    | 生体分子機能工学 | 専攻 | 申請学位（専攻分野）： 博士<br>Academic Degree Requested | （ 工学 ）<br>Doctor of |
| 学生氏名：<br>Student's Name | 古 菌 信 二  |    | 指導教員（主）：<br>Academic Advisor(main)          | 田 川 陽 一 准教授         |
|                         |          |    | 指導教員（副）：<br>Academic Advisor(sub)           | 丸 山 厚 教授            |

要旨（和文 2000 字程度）

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

本論文は、『新規アルドステロン合成酵素阻害薬の同定および心不全モデルを用いた薬効評価』と題し、以下の四章から構成されている。

第一章「序論」では、本論文の背景及び目的を述べた。わが国の慢性心不全患者数は高齢化に伴い増加している。慢性心不全は全ての心疾患の終末的な病態であり、生命予後が極めて不良な病態であることから、慢性心不全の治療は症状の緩和・QOLの改善のみならず、生命予後の改善、とりわけ急死の抑制が目的とされる。2010年に慢性心不全治療ガイドラインが発表されたことにより慢性心不全のための薬物治療も確立されてきているが、一般的に心不全の5年生存率は50%で、重症心不全の3年生存率では50%を切っているのが実情である。さらに、心不全患者数の増加は臨床上の問題のみならず、社会における医療費の増加という医療経済の観点から大きな問題として考えるべきであり、今後もさらなる生命予後の改善をもたらす心不全治療薬の開発が期待されている。心不全患者に対するミネラルコルチコイド受容体拮抗薬を用いた臨床試験の結果から、過剰なアルドステロンシグナルを遮断することが、心不全の予後改善に効果的であることが示唆されており、アルドステロンは、単なる電解質調節ホルモンとしてではなく、心血管リスクホルモンとして広く認識されるようになった。そこで、本研究ではミネラルコルチコイド受容体拮抗薬とは異なる手段として、アルドステロン合成酵素であるCYP11B2に対する阻害薬を用いて直接的にアルドステロン産生を抑制し、過剰なアルドステロンシグナルの遮断が心不全における予後改善作用を有しているかを検証することとした。CYP11B2阻害作用を有する化合物はこれまでも報告されていたが、特異性・齧歯類（ラットおよびマウス）への阻害活性が低いことが課題であった。そのために、CYP11B2に対して特異性が高く、ヒトとマウスの両酵素を阻害する化合物を新たに取得する必要性について述べた。

第二章『CYP11B2阻害薬のスクリーニング』では、ランダムスクリーニングの実施からCompound 1の取得にいたるまでを述べた。ヒトCYP11B2およびその電子伝達系共役因子安定発現HEK293A細胞の培地中に基質を添加してアルドステロン生成反応を進行させ、産生されたアルドステロン濃度をHTRF法で測定する系を構築した。さらにハイスループットスクリーニングにおいては、アルドステロン濃度を洗浄・分離の操作を経ることなく簡便に評価できる系としてアルドステロン特異的抗体によるシンチレーション近接アッセイを用いて酵素活性測定系を構築した。本系を用いて、第一三共株式会社の所有する低分子化合物ライブラリーの中からアルドステロン合成酵素阻害剤のスクリーニングを実施した。さらに、他の酵素に対する化合物の選択性があり、構造類似化合物における構造活性相関が取得できることを担保した上で、内在性酵素に対しても酵素阻害活性を有していることを確認し、最終的にヒトとマウス酵素に対する種差が少ない化合物としてヒット化合物Compound 2を選抜した。それをもとに探索的な誘導体展開を実施し、CYP11B2に対して特異性が高く、さらにヒトおよびマウス酵素阻害に対する種差が小さいpyrimidin誘導体のCompound 1（ヒトIC<sub>50</sub>：3nM、マウスIC<sub>50</sub>：96 nM）を取得した。また、Compound 1は溶解性や膜透過性などの物性面からも良好な結果を示し、高次動物評価へ進める価値がある化合物と判断した。

第三章『心不全モデルマウスを用いたCompound 1の薬効評価』では、左心室に対して圧負荷を誘導し、心肥大を生じさせる横行大動脈狭窄(TAC：Transverse aortic constriction)モデルマウスを用いて、Compound 1の薬効評価およびその臨床応用への可能性について記述した。TACマウスに対して0.06%のCompound 1を4週間混餌投与することで、血漿中アルドステロン濃度を有意に低下させ、肺うっ血改善作用を示し、延命作用をもたらすことが示された。

第四章では、総括として本研究の結論と意義についてまとめ、最後に今後の展望について述べた。

本研究はCYP11B2阻害剤の基礎研究および心不全におけるアルドステロンの寄与解明に重要な役割を果たし、アルドステロン合成酵素阻害薬が既存薬とは異なる新規作用メカニズムにより延命作用をもたらす新規慢性心不全治療薬になりうる可能性を示したと考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。  
Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。  
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

## 論文要旨

### THESIS SUMMARY

専攻： 生体分子機能工学 専攻  
Department of  
学生氏名： 古菌 信二  
Student's Name

申請学位(専攻分野)： 博士 (工学)  
Academic Degree Requested Doctor of  
指導教員(主)： 田川 陽一 准教授  
Academic Advisor(main)  
指導教員(副)： 丸山 厚 教授  
Academic Advisor(sub)

#### 要旨(英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Cardiovascular diseases are the most common cause of death globally. Aldosterone plays a crucial role in electrolyte regulation and volume homeostasis by binding to mineralocorticoid receptors. However, the excess aldosterone signaling via mineralocorticoid receptors may also contribute to organ damage and be involved in processes associated with cardiac hypertrophy and fibrosis. Recently, high plasma aldosterone concentration is recognized as a cardiovascular risk factor.

The key enzyme of aldosterone synthesis is aldosterone synthase (CYP11B2). CYP11B2 catalyzes the conversion of 11-deoxycorticosterone to aldosterone, and is predominantly expressed in the adrenal gland, but is also expressed in the cardiovascular system. Therefore, a direct inhibition of CYP11B2 is also expected to have therapeutic benefits to reduce the excess aldosterone signaling. In order to find effective aldosterone synthase inhibitors, a high throughput screening was performed, and compound 1 was identified as a novel and potent CYP11B2 inhibitor by lead optimization. Compound 1 showed potent CYP11B2 inhibition against human and mouse enzymes ( $IC_{50}$ ; 3 nM and 96 nM, respectively).

Next, the effects of compound 1 in an animal disease model of cardiac hypertrophy were evaluated by using the transverse aortic constriction (TAC) technique. TAC is a commonly used experimental model for pressure overload-induced cardiac hypertrophy and heart failure to mimic human cardiovascular diseases. TAC induced a high mortality rate and hypertrophic symptoms. Oral administration of 0.06% compound 1 by food mixture for 4 weeks significantly ameliorated mortality rate and lung congestion based on plasma aldosterone reduction. This study is the first to demonstrate that a CYP11B2 inhibitor improved survival rates of heart failure induced by pressure-overload in mice.

These results suggest that compound 1 can be developed as a promising oral CYP11B2 inhibitor for pharmaceutical applications. Compound 1 could also be a useful compound for clarifying the role of aldosterone in pathologic conditions caused by excess aldosterone.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).