

氏名	さわ だ まさ え 澤 田 昌 依
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	論 薬 博 第 709 号
学位授与の日付	平 成 16 年 5 月 24 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	スクアレンエポキシダーゼ阻害剤の高コレステロール血症治療薬としての可能性に関する薬理学的研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 佐 治 英 郎 教 授 佐 藤 公 道 教 授 半 田 哲 郎

論 文 内 容 の 要 旨

現在、プラバスタチンをはじめとする、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル (HMG)-CoA 還元酵素阻害剤が、高コレステロール血症の治療薬として用いられている。しかしながら、これらの薬剤を長期服用した場合に、いったん低下した血中コレステロール値が再び上昇する、いわゆるエスケープ現象が起こることがあり、それを解決する薬剤の開発が望まれている。

これまでの研究により、エスケープ現象には HMG-CoA 還元酵素の活性誘導が関与していると考えられている。すなわち、コレステロールはアセチル CoA を前駆物質としてメバロン酸、ファルネシルピロリン酸、スクアレンを経て生成されるが、この生成過程において、ファルネシルピロリン酸、スクアレン、あるいはそれらの代謝物が HMG-CoA 還元酵素のフィードバック調節物質として作用しており、HMG-CoA 還元酵素が阻害された場合、これらの物質が減少することにより 1-HMG-CoA 還元酵素の活性誘導が引き起こされるものと考えられている。

そこで、著者は、エスケープ現象を惹起しないコレステロール低下剤の開発を目的として、まず、*in vitro* および *in vivo* でのエスケープ現象の評価系を開発し、さらにそれを用いて、コレステロール生合成経路においてスクアレンの下流にある酵素スクアレンエポキシダーゼの阻害剤について、エスケープ現象を惹起しないコレステロール低下剤としての可能性を検討することを計画した。

まず、エスケープ現象の *in vitro* 評価系を開発を目的として、ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 におけるプラバスタチンおよびシンバスタチンのコレステロール生合成の阻害作用および HMG-CoA 還元酵素誘導作用を検討した。その結果、HepG2 細胞において、これらの化合物は、スクアレンおよびコレステロールの生合成を阻害すること、さらに、長時間の培養により濃度依存的に HMG-CoA 還元酵素の活性を増加させることを見出した。したがって、HepG2 細胞を用いてコレステロール生成および HMG-CoA 還元酵素誘導作用を測定することは、化合物のエスケープ現象惹起作用を評価するために有用であることが示された。

また、*in vivo* での評価系を開発を目的として、イヌおよびハムスターを用いてプラバスタチンの血中コレステロール値に与える影響を調べた。その結果、イヌでは、血中コレステロール値は、プラバスタチンを反復投与した場合その全期間を通じて低下した。また、ハムスターでは、血中コレステロール値はプラバスタチンの初回投与後に低下したが、反復投与により逆に増加することを認めた。さらに、プラバスタチンを投与したハムスターの肝臓での HMG-CoA 還元酵素活性を測定したところ、血中コレステロール値の増加とともに、この酵素活性が上昇していることを見出した。以上の結果から、エスケープ現象の *in vivo* 評価には、イヌおよびハムスターを用いることが有効であることを見出した。

エスケープ現象を惹起しないコレステロール低下剤の開発において、著者は、コレステロールの生合成は阻害するが、HMG-CoA 還元酵素の活性誘導の原因と考えられるファルネシルピロリン酸やスクアレンの生合成阻害は起こさない化合物が有効であると考え、コレステロール生合成経路において、これら中間体の生成過程の下流にある酵素、スクアレンエポキシダーゼの阻害剤について、その可能性を検討することを計画した。そこで、まず、アリルアミン誘導体 NB-598 が

スクアレンエポキシダーゼ阻害活性を有することに着目して、NB-598を母体化合物とする種々の化合物を合成し、それらのスクアレンエポキシダーゼ阻害活性を測定した結果、(E)-N-ethyl-N-(6,6-dimethyl-2-hepten-4-ynyl)-3-[2-methyl-2-(3-thienylmethoxy)propyloxy]benzylamine hydrochloride (FR194738)がヒト、イヌおよびハムスターのいずれのスクアレンエポキシダーゼに対しても強い阻害活性を有することを見出した。そこでさらに、FR194738についてHepG2細胞を用いて検討した結果、本化合物はコレステロールの生合成を阻害したが、スクアレンの生合成は阻害しなかった。また、本化合物のHMG-CoA還元酵素活性誘導作用を調べたところ、それはプラバスタチンやシンバスタチンの場合に比べ極めて弱かった。さらに、本化合物はイヌにおいて血中コレステロール値を低下させるとともに、ハムスターにおいても肝臓でのHMG-CoA還元酵素活性を変化させずに血中コレステロール値を低下させることを見出した。これらのことから、FR194738はHMG-CoA還元酵素の誘導を起さずに血中コレステロール値を低下させることが示された。

以上、著者は、*in vitro*および*in vivo*でのエスケープ現象評価系を開発するとともに、それを用いて、スクアレンエポキシダーゼ阻害剤がエスケープ現象を惹起しないコレステロール低下剤となり得る可能性を明らかにした。本研究の成果は、新たな高コレステロール血症治療薬の開発に有益な情報を提供するものであると考えられる。

論文審査の結果の要旨

現在、プラバスタチンをはじめとする、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル(HMG)-CoA還元酵素阻害剤が、高脂血症、特に高コレステロール血症の治療薬として用いられている。しかし、これらの薬剤を長期服用した場合に、いったん低下した血中コレステロール値が再び上昇する、いわゆるエスケープ現象が起こることがあり、それを解決する薬剤の開発が望まれている。最近の研究により、このエスケープ現象にはHMG-CoA還元酵素の活性誘導が関与している可能性、即ち、コレステロール生成過程において、メバロン酸よりも下流のファルネシルピロリン酸、スクアレン、あるいはそれらの代謝物がHMG-CoA還元酵素のフィードバック調節物質として作用しており、HMG-CoA還元酵素が阻害された場合、これらの物質が減少することによりHMG-CoA還元酵素の活性誘導が引き起こされることが示された。そこで、このような背景のもと、本論文は、*in vitro*および*in vivo*でのエスケープ現象の評価系を開発するとともに、それを用いて、コレステロール生合成経路において、スクアレンの下流にある酵素スクアレンエポキシダーゼの阻害剤について、エスケープ現象を惹起しないコレステロール低下剤としての可能性に関して検討したものである。

著者は、まず、エスケープ現象の*in vitro*評価系を開発を目的として、ヒト肝癌由来細胞株HepG2におけるプラバスタチンおよびシンバスタチンのコレステロール生合成の阻害作用およびHMG-CoA還元酵素誘導作用を検討した結果、HepG2細胞を用いてコレステロール生成およびHMG-CoA還元酵素誘導作用を測定することは、化合物のエスケープ現象惹起作用を評価するために有用であることを示した。

また、*in vivo*での評価系を開発を目的として、イヌおよびハムスターを用いてプラバスタチンの血中コレステロール値に与える影響を調べた結果、イヌでは、血中コレステロール値は、プラバスタチンを反復投与した場合その全期間を通じて低下すること、またハムスターでは、血中コレステロール値はプラバスタチンの初回投与後に低下したが、反復投与により逆に増加することを認めた。これらのことから、エスケープ現象の*in vivo*評価にはイヌおよびハムスターを用いることが有効であることを見出した。

スクアレンエポキシダーゼ阻害薬として、(E)-N-ethyl-N-(6,6-dimethyl-2-hepten-4-ynyl)-3-[2-methyl-2-(3-thienylmethoxy)propyloxy]benzylamine hydrochloride (FR194738)を合成し、FR194738についてHepG2細胞を用いて検討した結果、本化合物はコレステロールの生合成を阻害したが、スクアレンの生合成は阻害しないことを認めた。また、本化合物のHMG-CoA還元酵素活性誘導作用を調べたところ、それはプラバスタチンやシンバスタチンの場合に比べ極めて弱いこと、さらに、本化合物はイヌにおいて血中コレステロール値を低下させるとともに、ハムスターにおいても肝臓でのHMG-CoA還元酵素活性を変化させずに血中コレステロール値を低下させることを見出した。これらのことから、FR194738はHMG-CoA還元酵素の誘導を起さずに血中コレステロール値を低下させることが示された。

以上、本論文は、エスケープ現象を惹起しないコレステロール低下剤の開発に関して基礎的な成果を収めたものであり、新たな高コレステロール血症治療薬の開発に有益な情報を提供するものと評価される。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成16年3月26日論文内容とそれに関連した口答試問を行った結果合格と認めた。