

ふりがな	おうりえん
氏名	王麗艶
学位	博士(工学)
学位記番号	新大院博(工)第265号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Studies on the Natural Products with Multi Drug Resistant Cancer Reversal Activity (耐性癌克服活性を有する天然有機化合物に関する研究)

論文審査委員	主査	青木俊樹	教授
	副査	坪川紀夫	教授
	副査	萩原久大	教授
	副査	鈴木敏夫	教授
	副査	長谷川英悦	教授
	副査	安東政義	名誉教授

博士論文の要旨

本研究は、植物成分中より、耐性がん克服剤 [MDR (multi drug resistant) cancer reversal agent] の単離、構造決定、活性の評価および活性と構造との相関関係を研究し、耐性がん克服剤を開発しようというものである。がんは、現在人類にとって最も恐ろしい病気であり、死亡原因の第一位となっている。癌の治療法として、手術による患部の除去、制癌剤による化学療法、各種放射線の照射による放射線療法が主な治療法となっている。この内、この二十年間の間に、幾つかの有効な制癌剤が開発され、化学療法は有効な癌の治療法として注目されるようになってきた。特に外科手術の適用出来ない、白血病のような血液のがんについては、化学療法は、放射線療法と並んで、最も有望な治療法となっている。またそのままでは、外科手術が摘要できない進行したがんについては、化学療法を最初に適用し、患部にある程度の改善が見られた後に手術により患部を完全に除去する事も一般的におこなわれている。また外科手術により、患部を切除した後、肉眼では観察できない、微少な残留もしくは転移した癌細胞の除去にも制がん剤は、有効な治療手段として、用いられている。このようにがんの治療に制がん剤が広く適用されるようになると、がんの化学療法に新たな問題が生じてきた。制がん剤に対するがん細胞の耐性化の問題である。制がん剤を使用した化学療法では、がんが制がん剤に対して耐性を持つようになる。しかも1つの制がん剤に耐性を持ったがん細胞は、他の種類の制がん剤に対しても、例外なく耐性を持つようになる(多剤耐性化)。がんの化学療法にとって、これは大きな妨げとなる。がんの耐性化は、耐性化したがん細胞の細胞膜を縦断して生じる、P-糖蛋白が糖蛋白に結合するリン酸エステルの加水分解の時に生じるエネルギーを利用し、内から外に能動的に制がん剤を排除する事に原因がある。この際、P-糖蛋白は、ある特定の位置で制癌剤を補足し外側に制癌剤を排除し、無毒化する。この作用点に制癌剤の代わりに結合し、制癌剤の耐性癌細胞からの排除を妨げ、制がん剤の機能の回復を行う薬を耐性がん克服剤 (MDR-reversal agent) と言う。耐性がん克服剤の開発は、緊急の課題であるが、現在第二フェーズの試験に到達しているものがあるのみで、臨床に供給されているものがないのが現状である。

第1章 西洋ヤマゴボウより単離された生理活性トリテルペン配糖体

西洋ヤマゴボウより、12種類のトリテルペン配糖体(1-12)を単離した。この内、化合物(1-5)は新規化合物で、ファイトラカサポニン (phytolaccasaponins) N-1 (1), N-2 (2), N-3 (3), N-4 (4), N-5 (5) と命名した。新規化合物 1-5 の構造は、2次元高分解核磁気共鳴スペクトルの解析と、FAB または ESI イオン化法による、高分解マススペクトルおよび ESI による MS/MS 実験により、解析した。次にこれら 12 種類の化合物に

に関し、ヒト正常細胞 (WI-38), ヒト肺悪性腫瘍細胞 (VA-13), ヒト肝臓がん細胞 (HepG2) に対する細胞毒性試験を行った所、活性は、弱い事が分った。また抗炎症剤の *in vitro* での活性試験である、内皮細胞接着分子生産抑制試験に関しても、化合物 1-12 は、活性が弱い事が分かった。蛍光物質であるカルセインを利用した、化合物 (1-12) の *in vitro* での耐性がん克服剤としての活性試験では、化合物 (11) を除くすべての化合物に活性が認められた。活性試験で耐性がん克服剤としての活性が認められた化合物の内、1-6, 8, 10, 12 の化合物は、ヒト正常細胞、ヒトがん細胞の何れに対しても、細胞毒性が弱く、耐性がん克服剤として、望ましい化合物と言える事が解明された。

第2章 日本産イチイ針葉の2種類の新規タキソイド

イチイ針葉より2種類の新規タキソイドを単離した。1種類は、分子内に窒素原子を含む、塩基性タキソイドでタキシニン NA-13 と命名され、もう1種類は、 $3\alpha, 11\alpha$ -シクロタキサン骨格を有する非極性中性タキソイドで、 $3\alpha, 11\alpha$ -シクロタキニン NN-2 と命名された。タキシニン NA-13 と $3\alpha, 11\alpha$ -シクロタキニン NN-2 の構造は、2次元高分解核磁気共鳴スペクトルの解析と、EI イオン化法による、高分解マススペクトルの解析により、それぞれ構造式 1 および 2 である事を解明した。

第3章 日本産イチイ針葉および小枝より単離された塩基性タキソイドと高極性中性タキソイドの生理活性

再生可能な日本産イチイの植物資源として、その針葉と小枝を利用し、12種類の塩基性タキソイドと22種類の高極性中性タキソイドを単離した。この内タキシニン NA-13 (1), $3, 11$ -シクロタキシニン NN-1 (2), タキシニン NN-6 (5), $11(15\rightarrow1)$ アベオ-タキシニン NN-1 (7), タキシニン NA-8 (9), タキシニン NA-4 (12) は、新規化合物であった。化合物 1, 3-6, 8-13, 15-21, 23-30, 32 の細胞毒性試験は、3種類のヒト培養細胞、ヒト正常肺繊維芽細胞 (WI-38), ヒト肺悪性腫瘍細胞 (VA-13), ヒト肝臓がん細胞 (HepG2) を用いて行った。この内、化合物 3-5, 17, 18 は、VA-13 に対して活性を示した。また化合物 3, 4, 23, 24, 26 は、HepG2 に対して活性を示した。化合物 3-5, 17, 18 は、VA-13 に対する活性のほうが、その親細胞である、ヒト正常肺繊維芽細胞 (WI-38) に対する活性より、大きい事が分かり、副作用の少ない制癌剤の開発に役立つものと、期待される。

耐性がん克服活性については T ラベルをした制癌剤ビンクリスチンの耐性がん細胞中への蓄積量の試験化合物による回復を測定する事による活性試験を行った。その結果、化合物 9, 17, 20, 23 が、ビンクリスチン (VCR) を耐性子宮がん細胞 (MDR 2780AD) 内に蓄積させる量は、positive control として用いた標準の耐性がん克服剤であるベラパミル (verapamil) より大きい事が分かった。特にタキシニン NN-1 (23) は、ベラパミルの 3.3 倍の活性があり、耐性がん克服剤のリード化合物として有望である。またタキシニン NN-1 (23) は、39 種類のがん細胞を用いた、制がんパネルの解析により、新しい作用機作を有する制がん剤の可能性を示唆している。

審査結果の要旨

本論文の第1章では、古くから用いられている、生薬名、垂序商陸 (植物名西洋ヤマゴボウの根) の成分検索を行い、新規化合物五種類を含む12種類のトリテルペン配糖体を単離し、新規化合物に関しては、構造解析を、既知物については、同定を行っている。更にこれらの化合物の抗炎症活性、制癌活性、耐性がん克服活性の試験を *in vitro* で行っている。この内、化合物 11 を除く 11 種類の化合物に、耐性がん克服活性を見出している。以上の成果は、新規トリテルペン配糖体五種類の単離と構造解析および、11 種類の化合物に耐性がん克服活性を見出した点で、高く評価される。

本論文の第2章では、日本産イチイの針葉より新規塩基性タキソイド、タキシニン NA-13 と新規中性タキソイドである $3\alpha, 11\alpha$ -シクロタキニン NN-2 を単離し、その構造を2次元高分解核磁気共鳴スペクトルと、高分解マススペクトルの解析で解明しており、高く評価される。

本論文の第3章では、日本産イチイの高極性部と塩基性部を系統的に分離し、12種類の塩基性タキソイドと22種類のタキソイドを単離している。その内6種類は、新規化合物であった。単離された34種類の化合物の生理活性試験を行い、化合物 3-5, 17, 18 は、VA-13 に対して活性を、化合物 3, 4, 23, 24, 26 は、HepG2 に対して活性を示す事を見出している。また、化合物 3-5, 17, 18 は、VA-13 に対する活性が、親細胞である、ヒト正常肺繊維芽細胞 (WI-38) に対するものより大きいので、副作用の少ない制癌剤となる可能性を見出している。また化合物 9, 17, 20, 23 が、強い耐性がん克服活性を示す事を見出し、その中で最も高い活性を示した化合物 タキシニン NN-1 は 39 種類のがん細胞を用いた、制がんパネルの解析により、新しい作用機作を有する制がん剤の可能性を見出している。これらの結果は、制癌剤開発のための新たな知見を与えており、高く評価される。

以上の審査結果より、本博士論文は、博士 (工学) として十分な内容を備えているものと認定された。