

天然発がんプロモーター研究の新展開



(独)理化学研究所 基幹研究所 専任研究員 中川 優

はじめに

発がんプロモーターとは、潜在的な腫瘍細胞を悪性化させる化合物群の総称である。植物由来の天然発がんプロモーター・ホルボールエステルが、プロテインキナーゼC (PKC) を活性化することが西塚らによって発見されて以来、天然発がんプロモーター研究はPKCに焦点を当てた化学発がん機構の解析段階へと移行した。しかしながら、天然発がんプロモーターが8種のPKCアイソザイムを活性化することが判明したことにより、化学発がん機構の解析は困難を極めている。それに伴い、発がんプロモーター研究に基づいた抗がん剤の開発研究も、ほとんど進展していなかった。本講演者らは、停滞していた天然発がんプロモーター研究を進展させることを念頭に置いて、発がんプロモーターの誘導体化を進めてきた。そのなかで、天然発がんプロモーター研究に新しい展開をもたらさうる誘導体を開発することができたので、その成果を紹介させていただく。

1. PKCをアイソザイム選択的に活性化する発がんプロモーター誘導体の開発

ホルボールエステルタイプの発がんプロモーターが結合するPKCアイソザイムは、活性化にカルシウムイオンを必要とするconventional PKC 4種 (PKC α , β I, β II, γ) およびカルシウムイオンを必要としないnovel PKC 4種 (PKC δ , ϵ , η , θ) に分類される (図1)。これらのPKCアイソザイムは、それぞれ異なる細胞内シグナル伝達系を担っていることから、発がんプロモーターによって複数のPKCアイソザイムが同時に活性化されると、化学発がん機構の解析が極めて困難となる。この問題を解決するためには、PKCをアイソザイム選択的に活性化する発がんプロモーター誘導体が必要不可欠であると認識されていたが、細胞レベルでアイソザイム選択性を示す誘導体の開発には至っていなかった。

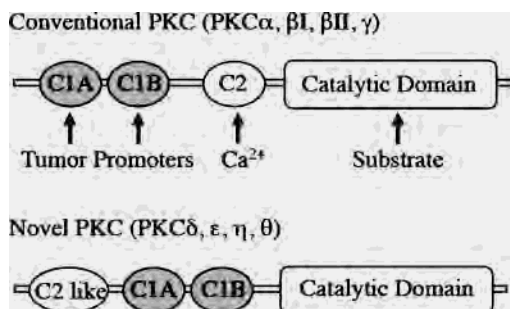


図1 発がんプロモーターが結合するプロテインキナーゼC (PKC) アイソザイム

本講演者らは、最も単純な天然発がんプロモーター・インドラクトムV (IL-V, 図2) に着目し、PKCをアイソザイム選択的に活性化するIL-V誘導体の開発に挑戦した。まず、構造活性相関に基づいて、IL-VとPKCとの結合様式を計算化学的に解析した結果、PKCの発がんプロモーター結合部位 (C1ドメイン) に存在するプロリン残基とIL-Vのインドール環との間に引力的な相互作用 (CH/ π 相互作用) が働いていることが想定された (図3)。そこで、IL-Vのインドール環およびPKC C1ドメインのプロリン残基を有機合成化学的に構造修飾し、リガンド・レセプターの両面からCH/ π 相互作用の重要性を評価した結果、CH/ π 相互作用がIL-VとPKCとの結合に大きく寄与していることが明らかになった。

CH/ π 相互作用は、その弱さゆえに一般的な薬剤設計では軽視されがちであるが、本講演者らはCH/ π 相互作用を分子設計の中心に据えて、PKCアイソザイム選択的なIL-V誘導体の開発研究を展開した。その結果、IL-Vのインドール環をベンゼン環に置換した誘導体 (1) およびラクタム環を拡大した誘導体 (2) が、細胞レベルでnovel PKCを選択的に活性化することを見いだした (図2)。細胞レベルで顕著なPKCアイソザイム選択性を示す天然発がんプロモーター誘導体は他に例がなく、1および2は、停滞している化学発がん機構の解析研究を進展させるための強力なツール分子となりうる。

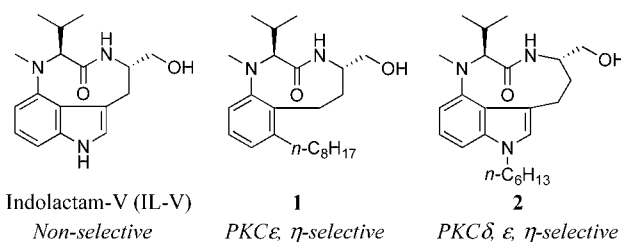
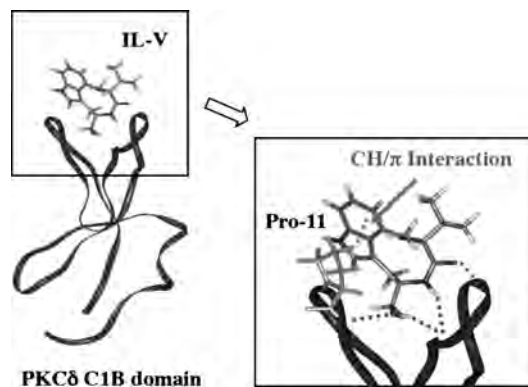


図2 インドラクトムV (IL-V) および novel PKC 選択的 IL-V 誘導体 (1, 2)

図3 IL-VとPKC δ C1Bドメインのドッキングモデル

2. 天然発がんプロモーターの骨格を有する新奇抗がん剤リードの開発

海洋天然物 bryostatin 1 (Bryo-1, 図4) は、発がんプロモーターと同様に PKC を活性化するにもかかわらず、高い抗腫瘍活性を示す抗がん剤である。このユニークな抗がん作用は、Bryo-1 の複雑な骨格でのみ発現可能であると信じられており、Trost, Wender, Keck といった有機合成化学分野における最先端の研究室が効率的な合成ルートの確立やアナログ開発を展開している。

本講演者らは、他のグループのように Bryo-1 の骨格に固執するのではなく、「発がんプロモーターの骨格を用いて Bryo-1 タイプの抗がん剤を創製する」という全く新しい切り口を設定した。この新奇な抗がん剤を開発するうえで指標としたのは、発がん抑制に関わる PKC アイソザイム・PKC δ の二つの C1 ドメイン (C1A, C1B) に対する結合選択性である。本講演者らは、Bryo-1 が PKC δ の C1A および C1B に結合するのに対し、ホルボールおよび IL-V 誘導体は C1B に選択的に結合することをすでに見いだしていた。そこで、C1 ドメイン結合選択性を指標としたスクリーニングを行った結果、天然発がんプロモーターである aplysiatoxin (ATX) が Bryo-1 と同様に、C1A にも比較的強く結合することが明らかとなり、ATX を新奇抗がん剤開発におけるリードとして設定した。

ATX をリードとして抗がん剤を開発するうえで問題となるのは、「いかに発がん促進活性を消失させるか」および「いかに合成を簡略化するか」の2点である。前者に対しては、ATX の発がん促進活性が分子疎水性度に依存していることに基づき、分子疎水性度を下げて発がん促進活性を低下させることを計画した。後者は、不斉炭素の数を減らすことで対応することとした。これらの点を考慮し、ATX の構造を単純化した Aplog-1 を新奇抗がん剤の候補としてデザインした (図4)。

Aplog-1 の合成は、Keck らの不斉アリル化、Smith らの iodocyclization、ジチアンとエポキシドのカップリング、および山口ラクトン化を鍵反応として行い、Aplog-1 をリニアード

22 段階、収率 2.3% で合成することができた。Aplog-1 は、Bryo-1 と同様の PKC δ C1 ドメイン結合選択性を示し、驚くべきことに、Bryo-1 に匹敵するヒトがん細胞増殖阻害活性を示した。さらに、発がん促進活性と高い相関がある Epstein-Barr ウイルス早期抗原誘導試験の結果、Aplog-1 は、ATX と比べてはるかに弱い発がん促進活性しか示さず、逆にホルボールエステルによる発がん促進作用を Bryo-1 と同程度に抑制することが明らかになった。以上の結果から、Aplog-1 は、天然発がんプロモーターの骨格を有しているにもかかわらず、抗発がん促進活性およびがん細胞増殖阻害活性を示す極めて新奇な化合物であることが示唆された。

本研究によって、PKC 活性化を介した抗がん作用は Bryo-1 の骨格以外でも発現可能であることが初めて示され、PKC をターゲットとした抗がん剤の新たな開発戦略を示すことができた。さらに、Aplog-1 の作用機構解析において、Aplog-1 が細胞内で Bryo-1 に特徴的な PKC δ 活性化プロファイルを示すことも明らかにした。Aplog-1 は、Bryo-1 よりもはるかに容易に合成あるいは誘導体化できることから、本結果は、Aplog-1 がこれまでブラックボックスであった「PKC 活性化を介する抗がん作用メカニズム」の全容を解明するためのツール分子としても応用可能であることを示唆するものである。

おわりに

天然発がんプロモーター研究の最終目標は、「化学発がん機構の全容解明」とその知見に基づく「新しい作用機序を有する抗がん剤の開発」である。本研究で開発した天然発がんプロモーター誘導体は、停滞していた化学発がん機構の解析研究においてブレークスルーを与えるとともに、天然発がんプロモーターの骨格を有する全く新奇な抗がん剤のリードとなるものである。本研究が、天然発がんプロモーター研究の二大目標達成に少しでも貢献できれば幸いである。

謝辞 本研究は、京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻生命有機化学分野にて行われたものです。本研究を行う機会を与えていただき、12年間の長きにわたってご指導、ご鞭撻いただきました入江一浩先生に心より御礼申し上げます。また、学生時代に同分野担当教授としてご指導賜りました大東肇先生 (現 福井県立大学) に深く感謝いたします。ATX をリードとした抗がん剤開発研究は、スタンフォード大学での Bryo-1 に関する研究経験なくしては着想しえなかったものであり、同大学でご指導賜りました Paul A. Wender 先生に厚く御礼申し上げます。また、本研究を推進するにあたり、生命有機化学分野において貴重なご助言をいただきました平井伸博先生ならびに村上 明先生、多大なご協力を賜りました神戸大学・齋藤尚亮先生、同大学・柏木香保里博士、同大学・高橋英之博士、東京海洋大学・永井宏史先生、癌化学療法センター・矢守隆夫先生、日本電気株式会社・津田健一郎博士に厚く御礼申し上げます。本研究の成果は、柳田 亮博士 (現 香川大学) をはじめ、生命有機化学分野の卒業生および在学生の努力の賜物であり、共に研究を行っていただいた皆様に深く感謝いたします。最後に、本奨励賞にご推薦くださいました理化学研究所和光研究所長・小川智也先生、現所属長・伊藤幸成先生、およびご支援賜りました諸先生方に厚く御礼申し上げます。

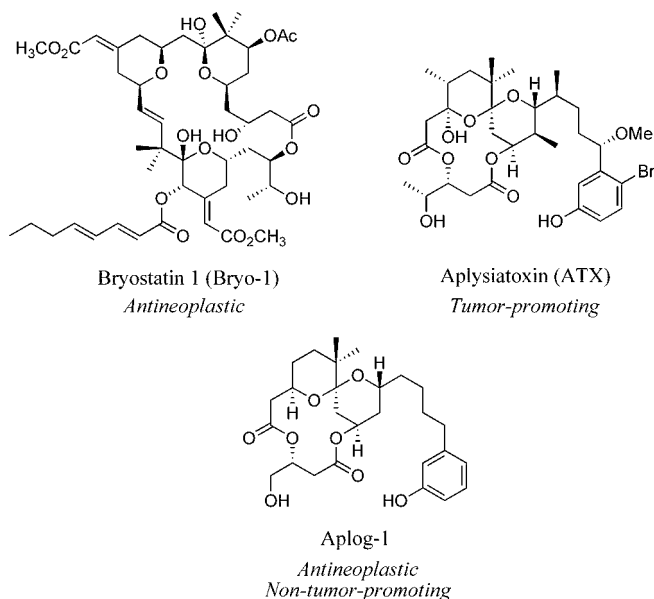


図4 Bryostatin 1 (Bryo-1), aplysiatoxin (ATX), および Aplog-1 の構造