

海洋生物からの新しい医薬シーズの探索



研究室紹介

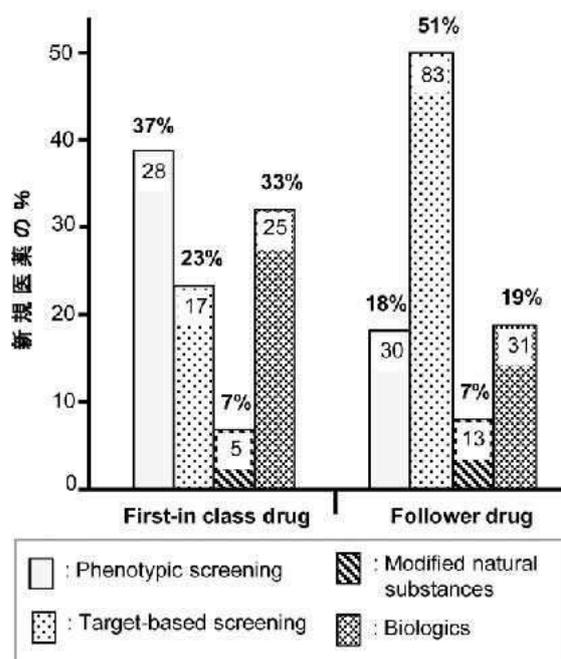
小林 資正*

Search for New Medicinal Seeds from Marine Organisms

Key Words : Marine Organism, Medicinal Seeds, Angiogenesis, Hypoxia-selective Growth Inhibitor

1. はじめに

米国食品医薬品局 FDA に認可された新規医薬品について、1999 年から 2008 年までの 10 年間のデータを開発手法ごとにまとめられた図がネイチャーレビュー誌に掲載されているので、引用させていただく。¹⁾ それによると、追従する 2 番手以降の医薬品としてのフォロワー医薬品については半分が既存の薬剤標的分子を指標としたターゲットベースドスクリーニングによる創薬研究から生まれたものだが、新しい分子作用メカニズム (MMOA) を有する画期的医薬品と呼ばれるファーストインクラスの医薬品については、主に細胞を使ったフェノタイプックスクリーニングからの開発が多く、しかも 28 個の新薬の中、9 個は標的分子が未知のまま承認されている。一方、現在の製薬企業における創薬研究では HTS スクリーニングシステムを使った化合物ライブラリーからのターゲットベースドアプローチが主体である。フェノタイプックスクリーニングでは、見出された医薬シーズの標的分子を明らかにすることが難しかったが、ケミカルバイオロジーによる解析手法が着実に進歩してきており、今後ますますフェノタイプックスクリーニングからの新たな画期的医薬品の開発が加速されることが期待される場所である。



Distribution of new drugs approved by US FDA between 1999 and 2008, according to the discovery strategy

(Nat. Rev. Drug Discov. 2011, 10, 507-519.)

図1 FDA認可医薬品の分類



* Motomasa KOBAYASHI

1951年7月生
大阪大学薬学研究科博士課程中退
(1978年)

現在、大阪大学大学院薬学研究科天然物化学分野 教授 薬学博士 天然物化学
TEL : 06-6879-8215
FAX : 06-6879-8219
E-mail : kobayasi@phs.osaka-u.ac.jp

2. 研究室での研究ストラテジーの変遷

私は、大学4年生の時から今日に至るまで同じ研究室(生薬学・天然物化学)に所属しているが、時代とともにその研究ストラテジーが変遷している。はじめにいただいた研究テーマが「サンゴ礁で異常繁殖して有名になったオニヒトデからサポニン成分を探す」であり、世界で初めてヒトデ類からサポニン成分を単離してその全化学構造を決定したという成果を得たが、どんな生物活性を有する成分かも分からず私には少し物足りないものであった。次に先輩が研究されていた食用のマナマコが産生するサポニンの構造研究を引き継ぎ、ナマコからも世界で初

めてサポニンの全化学構造を決定することができた。ホロトキシンと命名されたこのサポニンは、強力な抗真菌活性を有し、現在、水虫薬として実用化されている。

さらに、沖縄サンゴ礁には海綿という面白い生物がいて、海綿からはこれまでの植物成分にはない新奇な化学構造の化合物が得られることがわかり、自ら潜ってスキューバダイビングによる海洋生物の採取を始めた。そして、沖縄本島や八重山諸島のサンゴ礁で採取した海綿からは、次々に面白い化学構造を有する新奇物質が得られてきたのでそれなりに面白かったが、しだいに医薬シーズとなるような生物

活性物質を探索したいという気持ちが募っていった。

そこで当時は、製薬企業でも開発が難しいとされた抗がん剤のシーズを探索すべく、がん細胞を分けていただき MTT 法というアッセイ手法を習って、活性試験を指標にする細胞毒性物質の探索を開始した。その結果、海綿から、アレナスタチン A、カリスタチン A やアルトヒルチン A といったピコグラムレベルで非常に強力な活性を示す化合物を見出すことができた。

私達の研究室で行っている現在の研究ストラテジーを図3に示す。私達は、細胞を使った評価系を構築し、海綿を中心とする海洋生物の抽出エキス、海

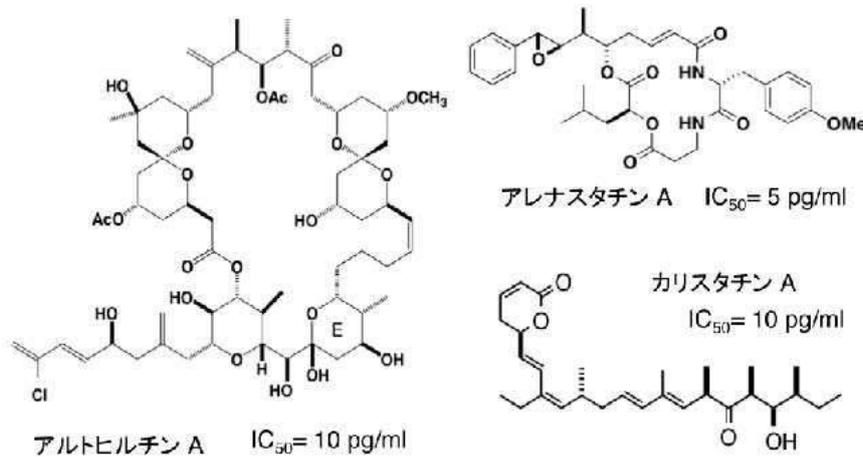


図2 海綿から見出した強力な細胞毒性物質

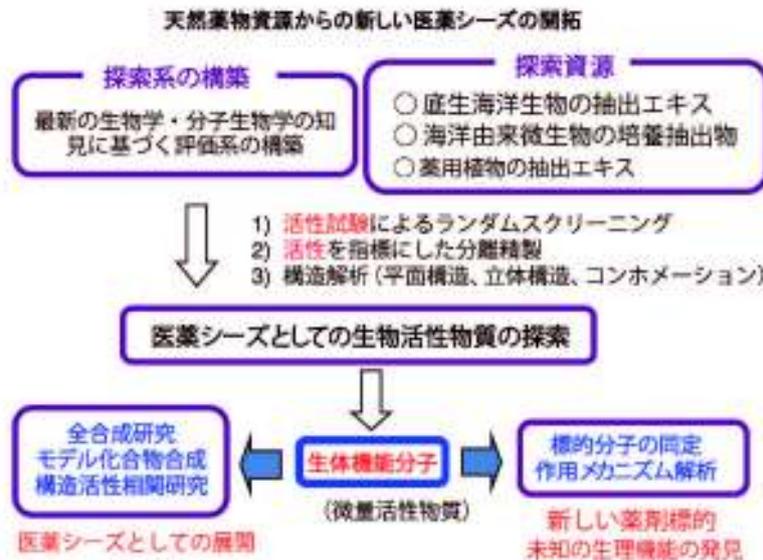


図3 新しい医薬シーズの探索研究ストラテジー

洋微生物の培養物や、薬用植物の抽出エキスのライブラリーをスクリーニングし、活性試験を指標に活性成分を探索している。見出し化学構造を決定した活性物質（生体機能分子）はたいてい微量活性物質であり、さらに全合成研究で活性物質を供給することを試みるとともに、モデル化合物の合成による構造活性相関の解析研究から医薬シーズとしての展開を図っている。また、ケミカルバイオロジーの手法で活性物質の標的分子の同定や作用メカニズムを解析することにより、新しい薬剤標的の発見や未知の生理機能の発見につなげようとしている。

私達は、細胞毒性物質の探索から医薬シーズの探索を始めたが、細胞毒性物質は正常細胞への毒性も強く、なかなか抗がん剤としての展開が難しそうだと考えられたことから、がん細胞選択的に増殖を阻害する物質を探索する方向へと転換していった。すなわち、細胞が生体内で示す特殊な表現型変化に着目して、それを新しい医薬シーズ探索のためのフェノタイプックスクリーニング系構築へと応用し、既存のターゲットベースドスクリーニングによる医薬シーズ探索とは異なる方向からの探索研究を展開している。以下に、最近の探索研究を紹介させていただく。

3. がん血管新生阻害物質の探索

腫瘍血管新生を阻害する物質は、がんの成長を特異的に抑制する副作用の少ない新しい抗がん剤として期待されている。私達はがん血管新生の各過程にかかわっている血管内皮細胞を格好のターゲットと考え、正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に選択的に増殖抑制効果を示す活性天然物の探索を行った。コルチスタチン A と命名した海綿から見出した活性物質は、側鎖にイソキノリン環を有し、母核の B 環が 7 員環となった特異な化学構造を有するステロイドであった。²⁾ コルチスタチン A は、3000 倍以上の選択性を有する HUVEC 選択的な増殖阻害活性を示した。コルチスタチン A は微量活性成分であったことから、さらにネズミレベルの *in vivo* で作用の解析をするために全合成を検討したが、複雑な化学構造を有することから多行程を要し、母核部分の合成ができたところで息切れした。そこで、より簡単な化学構造で活性を示すモデル化合物合成に方向転換し、種々合成した中で、ようやく 300 倍

の HUVEC 選択的な活性を示しかつ 7 工程で合成できる化合物 analog 6 を見出すことができた。Analog 6 の *in vivo* での作用を解析した結果、経口投与でも血管新生を阻害するとともに、良好な抗腫瘍活性を示すことが明らかになった。また現在、その標的分子を明らかにするために、analog 6 からリンカーを介してビオチンタグを付けたプローブ分子を合成して、標的分子のプルダウン実験やファージディスプレイ法を用いて解析している。

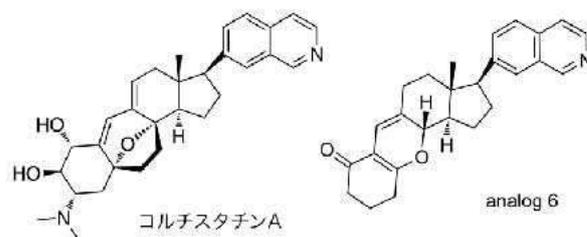


図4 コルチスタチン A と活性アナログ

4. 低酸素環境選択的な増殖阻害物質の探索

腫瘍内部の環境は一定ではなく、新生血管が脆弱かつ無秩序に形成されるため、部分的な低酸素環境が存在し、また低酸素環境に適応したがん細胞は、化学療法や放射線療法に抵抗性を示すとともに、低酸素応答遺伝子を発現誘導して血管新生を亢進する。私達はヒト前立腺がん DU145 細胞を 1% 酸素濃度で培養することにより低酸素環境に適応させ、低酸素選択的に増殖阻害を示す化合物を探索するフェノタイプックスクリーニング法を構築した。

海綿からフラニルセスタテルペン系のフロスピノスリン-1 を微量活性物質として見出した。³⁾ フロスピノスリン-1 は不斉炭素もなく非常に簡単な化学構造を有していたことから、簡単に化学合成できた。また、種々の類縁体を化学合成して化学構造と活性の相関を解析したところ、そのほとんどの化合物が活性がなく、標的分子はフロスピノスリン-1 の化学構造を非常に厳密に認識していることが明らかになった。また、マウスを用いた *in vivo* 実験から経口投与でも低酸素領域選択的な増殖を阻害し、良好な抗腫瘍活性を示すことが判明した。さらに、経路特異的 Oligo GEArray やゲルシフトアッセイによる標的分子の解析からフロスピノスリン-1 は、低酸素条件下で発現が亢進するインスリングロースファ

クター2 (IGF-2) 遺伝子のプロモーター領域の SP-1 部分に転写因子が結合するのを阻害することが分かった。さらに標的の転写因子のプルダウン実験を行った結果、低酸素培養の細胞から調整した場合にのみ結合して IGF-2 蛋白の発現を阻害する p54^{nrb} 蛋白と、新たな作用メカニズムで作用する LEDGF 蛋白を見出した。これらの蛋白の低酸素環境下での作

用については知られておらず、新しい抗がん剤の薬剤標的になることが期待される。

参考文献

- 1) Swinney D. C. et al, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **10**, 507 (2011).
- 2) Aoki S. et al, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 3148 (2006).
- 3) Arai M. et al, *ChemMedChem*, **5**, 1919 (2010).

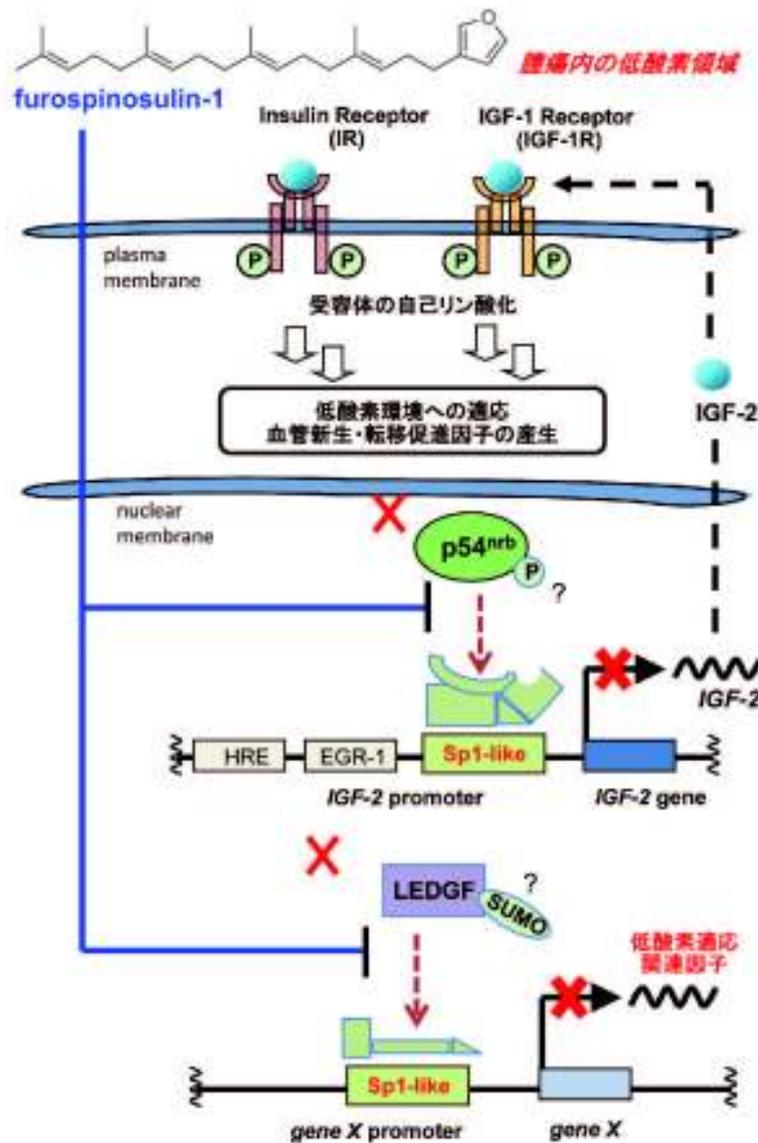


図5 フロスピノスリン-1の作用メカニズム