



Title	新規抗生物質 Dihydrobenzoxazine 誘導体の抗腫瘍活性およびその作用機作についての研究
Author(s)	梶田, 喜久男
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37411">https://hdl.handle.net/11094/37411</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・（本籍）	ます 榎	だ 田	き 喜	く 久	お 男
学 位 の 種 類	薬	学	博	士	
学 位 記 番 号	第	9	4	5	5 号
学位授与の日付	平 成	3	年	1	月 14 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当				
学位論文題目	新規抗生物質 Dihydrobenzoxazine 誘導体の抗腫瘍活性 およびその作用機作についての研究				
論文審査委員	(主査) 教 授 近藤 雅臣				
	(副査) 教 授 三村 務 教 授 今西 武 教 授 岩田 宙造				

## 論 文 内 容 の 要 旨

死亡原因の第 1 位になったとはいえ癌の治療は診断技術の進歩や治療技術の向上などにより著しく向上している。癌の治療は主に、外科療法、放射線療法および抗癌剤の投与による化学療法に分けられるが、今なお治療成績が不十分な種々の固形癌の克服が癌化学療法の急務といえる。このような状況の中、抗腫瘍作用の増強および作用機作の新規性をねらった新しい構造の抗癌剤のスクリーニングが盛んに行われている。著者らは、放線菌由来で新規構造の dihydrobenzoxazine 骨格を有する化合物のトリアセチル誘導体である TADBO が抗腫瘍作用に優れ、難治性固形癌にもよく奏効することを実験的に見だし、作用機作を含めた薬理学的特徴を明らかにするために種々の検討を行った。

まず培養腫瘍細胞に対する直接的な細胞障害作用を in vitro において検討したところ TADBO の各種腫瘍細胞に対する細胞障害作用は mitomycin C (MMC) や cisplatin (CDDP) より強かった。次いで in vivo における有効性を評価した。マウス白血病細胞、結腸癌細胞、メラノーマ細胞等いずれの腹水系腫瘍に対しても TADBO は用量依存的に強力な延命作用を発揮し、かつ対照薬に比べ著しく広い有効域を示した。固形癌ではマウス卵巣肉腫、結腸癌、メラノーマおよび肺癌に対しても TADBO はその増殖を強く抑制した。ヌードマウスの皮下に移植された肺癌、乳癌および胃癌の 3 種のヒト固形癌に対し TADBO は、既存の抗癌剤が効きにくい肺癌、胃癌を含めいずれの腫瘍に対しても強力な腫瘍増殖抑制作用を示した。また既存抗癌剤に対して薬剤耐性を示す P 388 細胞に対する in vivo での抗腫瘍作用を検討したところ、TADBO は多くの既存抗癌剤とはほとんど交叉耐性を示さず、耐性株にも抗腫瘍作用を発揮した。

TADBO のヒトあるいは動物の血液中での代謝様式を調べるとともに、それぞれの代謝物につきその

抗腫瘍作用を *in vitro* および *in vivo* の両系において評価した。その結果 TADBO はヒトおよび実験動物のいずれにおいてもその血液中あるいは血清中で容易に脱アセチル化を受けて二つのジアセチル体に、次いで比較的安定な N-アセチル体を経て DBO に代謝された。これらの代謝物は *in vitro* および *in vivo* において抗腫瘍作用を示したが、その強さはいずれも TADBO を越えることはなかった。

臨床において抗癌剤は単独で用いられることはまれで、副作用の軽減、癌細胞の抗癌剤に対する耐性誘導の防止および抗腫瘍作用の増強を期待して作用機作が異なる他の抗癌剤と併用される。TADBO の L 1210 細胞周期に及ぼす作用を調べ、*in vivo* での併用療法に応用した。その結果 TADBO は MMC と同様に G<sub>2</sub> 期に細胞を蓄積させたが、その作用の発現は MMC に比べ遅かった。また TADBO の作用は VLB および Ara-C とは明らかに異なるものであった。そこで TADBO を Ara-C と組み合わせ、腹腔内に L 1210 細胞を移植したマウスに同時投与したところ、それぞれの単独投与よりも延命作用の著しい増強がみられ、臨床応用における併用療法に期待がもたれた。

TADBO は構造的には新規な化合物であるので、*in vitro* で腫瘍細胞に対する作用機作を解析した。培養マウス白血病細胞 L 1210 に対して TADBO はその DNA 合成を阻害する効果が最も強かった。そこで DNA との相互作用すなわち DNA 二重鎖間での薬物の架橋形成を、アルカリ溶出法を応用して解析した。TADBO は MMC と同様に DNA 二重鎖間に濃度依存的に架橋を形成したがこの架橋形成は数時間を要して最大に達する時間依存的なもので、薬物処理直後に最大値を示す MMC とは対照的だった。また TADBO は DNA-蛋白質間でも架橋を形成したが DNA の切断は起こさなかった。

L 1210 細胞の核を単離し、細胞質非存在下では TADBO は DNA 二重鎖間に架橋を形成し得なかったので TADBO は細胞質内での活性化を必要とすることが示唆された。そこで次に TADBO の細胞質内での活性化様式の解析を行なった。まず各種代謝阻害剤等による TADBO の細胞障害性軽減作用を、マウス白血病細胞 L 1210 の DNA 合成能を指標にして調べた。その結果、数種の阻害剤の中で monoamine oxidase (MAO) 阻害剤でもある tranlylcypromine に TADBO の細胞障害性軽減作用がみられた。種々の MAO 阻害剤および MAO 基質について同様の検討を行った結果、benzylamine, phenylethylamine や tyramine にもその効果が現れたが pargyline, iproniazid 等については TADBO の細胞障害性軽減作用は認められず、TADBO の細胞質内活性化機構と MAO 活性は直接関係がないと考えられた。benzylamine 等の TADBO の細胞障害性軽減剤は、既存の抗癌剤の中で細胞内で活性化されることが知られている MMC の他、ADR や CDDP の細胞障害性にはなんら影響しなかったことから、この細胞質内での活性化機構は TADBO に特異的なものと思われた。更にこれらの化合物は TADBO の架橋形成を濃度依存的に抑制し、同様の条件下での細胞障害性とこの架橋形成頻度は非常によく一致した。この効果はやはり TADBO に対して選択的で、MMC や CDDP の架橋形成を抑制しなかった。

これらの実験事実より、TADBO は腫瘍細胞内に取り込まれた後細胞質において一連の共通構造を認識する特異性の高い酵素により活性化を受けて DNA 二重鎖間あるいは DNA-蛋白質間で架橋を形成して DNA の複製を阻害することが明らかになった。つまり TADBO の作用の本態は DNA との架橋形成にあり、これと細胞障害作用との間に密接な相関関係があることが強く示唆された。

以上をまとめると、TADBO は特異的な細胞質内活性化を必要とする bifunctional なアルキル化剤の

ひとつであり、DNA 合成を阻害して細胞周期を G<sub>2</sub> 期に止めて細胞障害性を示し、動物実験系において強い抗腫瘍活性を発揮すると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

放線菌代謝産物の新規化合物 Dihydrobenzoxazine LDB 構造を有するトリアセチル体 (TADBO) が、強力な抗腫瘍作用を有し、難治性固形癌にも有効であることを明らかにした。この物質は血液中において、比較的安定な N-アセチル体を経て原体の DBO へと変換されるが、この間、細胞周期を G<sub>2</sub> 期で止め、細胞障害作用を示して抗腫瘍活性を発揮するものと判定した。その作用機構として、TADBO は腫瘍細胞にとり込まれた後細胞質で一連の共通構造を認識する特異性の高い酵素により活性化され、DNA 二重鎖間あるいは DNA-蛋白質間で架橋を形成して DNA の複製を阻害するものと結論した。この研究は新規抗腫瘍剤の開発ならびに作用機序の解明を行なったものであり、とくに固形癌治療への道を拓くものとして学位授与に値するものと判定した。