



| | |
|--------------|---|
| Title | 新規ベンゾイルフェニルウレア系化合物 (H0-221)の抗腫瘍活性とその作用機作に関する研究 |
| Author(s) | 中島, 常隆 |
| Citation | 大阪大学, 1991, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/37764 |
| 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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | | | | |
|------------------|--|---------|------|---------------------|
| 氏 名 | なか | じま | つね | たか |
| | 中 | 島 | 堂 | 隆 |
| 博士の専攻分野 の 名 称 | 博 | 士 | (薬 | 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 | 9 9 2 7 | 号 | |
| 学位授与年月日 | 平 成 | 3 年 | 10 月 | 28 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 | | | |
| 学 位 論 文 名 | 新規ベンゾイルフェニルウレア系化合物 (HO-221) の抗腫瘍活性とその作用機作に関する研究 | | | |
| 論文審査委員 | (主査) | | | |
| | 教 授 | 三村 | 務 | |
| | (副査) | | | |
| | 教 授 | 真弓 | 忠範 | 教 授 馬場 明道 教 授 三浦 喜温 |

論 文 内 容 の 要 旨

著者らは新規抗癌剤を見出すため、種々の被験物質の抗癌スクリーニング試験を実施し、新規農薬開発を目的として合成されたベンゾイルフェニルウレア系化合物の中に、抗腫瘍活性を示すものを見出した。その後、本系化合物の中から HO-221 を選択し、その腫瘍細胞に対する特性や反応性を検討すべく、本研究に着手した。

はじめに、HO-221 の薬理作用の特徴を把握するため、in vivo でアメリカ癌研究所のプロトコールに準じ、腹水および固型癌モデルを用いての抗腫瘍作用を検討した。その結果、HO-221 は経口投与により、マウス腫瘍である B16 メラノーマに対しての作用は弱いものの、他の実験腫瘍に対し、優れた抗腫瘍作用および広い抗腫瘍スペクトルを示した。特に、固型癌モデルに対する HO-221 の効果は顕著であった。一方、より臨床に近い実験腫瘍モデルとしての、ヌードマウス移植ヒト胃癌、大腸癌、肺癌モデルおよび進行癌に対し、HO-221 に他抗癌剤と共に優れた効果を認めた。

次に、in vitro における HO-221 による直接的細胞障害作用では、マウスおよびヒトの各腫瘍細胞に対して、HO-221 は強い障害作用を示した。

さらに、HO-221 の抗腫瘍作用の有用性を見出す目的で、マウス腫瘍より樹立した10種の汎用抗癌剤に対する薬剤耐性細胞を用い、HO-221 と汎用抗癌剤との交叉性について検討したところ、耐性細胞に対して HO-221 は感受性細胞と同様に高い抗腫瘍効果を示し、交叉耐性を認めなかった。多くの抗癌剤が示す副作用として、骨髄障害が知られている、HO-221 の骨髄抑制作用を検討したところ、アルキル化剤と比較して軽微であった。

臨床における HO-221 の至適投与法を決めるために、in vivo における HO-221 の抗腫瘍作用に対する投与スケジュール依存性の検討を行った。L 1 210 細胞をマウス腹腔内へ移植後、各スケジュー

ルにてHO-221を投与した結果、本剤の間歇投与が優れた効果を示した。

次に、実験動物にHO-221を経口投与し、血漿中のHO-221濃度を測定してその血中動態を調べた結果、HO-221のラット、イヌ、サルの中半減期は14～67時間で、血中からの消失は非常に遅いことが明らかになり、このようなHO-221の長い血中半減期が、投与スケジュール依存性に反映されていると考えられた。さらに、HO-221の細胞周期に対する作用を調べ、他抗癌剤との併用療法への応用を検討した。HO-221のHL60細胞の細胞周期におよぼす作用を、flow cytometryを用いて検討したところ、代謝拮抗剤としての性質と共に、ビンカアルカロイド系の性質も有していることが示唆された。

また、HO-221の臨床での併用療法のために、in vivo および in vitro での他抗癌剤との二剤併用療法を行った結果、アルキル化剤(CPA)、抗生物質(ADM, MMC)、植物アルカロイド(VDS, VCR, VP-16)などの薬剤との間で高い併用効果を示したが、代謝拮抗剤(5-FU, MTX)との効果は小さかった。

次に、HO-221がどのような機作で薬理作用を発揮しているのかを検討した。L1210やKB細胞の増殖を抑制する濃度において、細胞のDNA合成やRNA合成がタンパク合成に比べ阻害されたが、明確な結果ではなかった。そこで、in vitro での酵素反応系におけるHO-221の作用について検討した。子ウシ胸腺由来DNAポリメラーゼ α の阻害作用を6種の汎用抗癌剤と共に検討し、各薬剤のIC₅₀値を比較した結果、HO-221の阻害活性は、DNAポリメラーゼ α の特異的阻害剤であるaphidicolinやara-CTPに匹敵することを見出した。さらに、HO-221はKB細胞から分離精製したDNAポリメラーゼ α も同様に阻害したが、そのDNAポリメラーゼ β 、 γ に対しての阻害は認められず、HO-221はDNAポリメラーゼ α に特異的に阻害することが明らかになった。

次に、HO-221のDNAポリメラーゼ α に対する阻害様式を検討した結果、HO-221はDNAポリメラーゼ α に対して、aphidicolinやara-CTPの様にd-CTPと拮抗阻害せず、非拮抗阻害様式を示した。

次に、DNA複製や転写に重要な役割を果たしているDNAトポイソメラーゼに対するHO-221の作用を検討した。calf thymus由来DNAトポイソメラーゼI、P388およびHeLa細胞由来のIおよびII両酵素に対して、HO-221は酵素活性を阻害し、抗癌剤であるCTP-11およびVP-16より強かった。また、HO-221の脳由来ミクロチューブリンの重合阻害作用を検討した結果、その特異的阻害剤であるcolchicinなどに比較して非常に弱い、阻害活性が認められた。以上の様に、HO-221の抗腫瘍作用機作は単一なものではなく、複製、転写、組み換え等の生物の生存にかかわる基本的なDNA代謝に深く関与している諸酵素への阻害が、作用機作と考えられる。

さて、癌の化学療法における問題の一つに、抗癌剤に対する腫瘍の薬剤耐性が挙げられる。そこで、HO-221に対する薬剤耐性の賦与を、L1210およびP388白血病細胞を用いて試みた。HO-221はL1210細胞に対しては、90代継代後(約900日)もHO-221に対する耐性賦与が不可能であったが、P388細胞に対して、27代目(約350日)で耐性が賦与された。即ち、汎用抗癌剤に対するこれら両細胞への耐性賦与に比べれば、多大の時間を要し、HO-221の耐性腫瘍は出来にくいことが明らかになった。

(Ara-Cは3代目、約30日で耐性が賦与された)。

次に、このHO-221 耐性細胞 (P388/HO-221) に対して、汎用抗癌剤の交叉性を検討したところ、12種の汎用抗癌剤は本耐性細胞に高い抗腫瘍作用を示し、HO-221 との間には交叉耐性のないことが確認された。次に、本HO-221 耐性機作を明らかにする一端として、P388/HO-221 の薬剤排泄機能 (多剤耐性) について検討したところ、HO-221 の腫瘍細胞への取り込みは、感受性株、薬剤耐性株間に有意差はなく、HO-221 の薬剤耐性機作として、P-糖タンパク関与による多剤耐性機作は否定された。

以上の様に、HO-221 は新規な構造と共に、in vivo での強い抗腫瘍作用、新規な作用機作、さらには既存の抗癌剤と交叉耐性を持たないなどの特徴を有していることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

本論文は新規抗癌剤の開発を目的にしてスクリーニングされたベンゾイルフェニルウレア系化合物の一つ、N-〔4-(5-Bromo-2 pyrimidinyl)oxy)-3-chloro phenyl〕-N'-(2-nitro benzoyl) urea : HO-221 が既存の汎用抗癌剤と比べて孫色のないことを示したもので以下のような成果を得ている。

- (1) 汎用抗癌剤に対する耐性細胞に有効で、かつ交叉性がなく、骨髓抑制作用が軽微である。
- (2) 腫瘍細胞の細胞周期に作用して代謝拮抗剤として働くこと、またアルキル化剤、抗癌性抗生物質、植物アルカロイドとの間に高い併用効果がある。
- (3) 作用機作としてDNA-ポリメラーゼ α 、DNA-トポイソメラーゼI、II、に対する阻害活性があげられる。
- (4) 汎用抗癌剤との間に交叉耐性がない。

以上のように本論文は新規抗癌剤の開発に大きく寄与するもので博士論文として価値あるものと認める。