OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	副作用の少ない抗がん剤をめざした血管新生阻害剤の探索
Author(s)	青木, 俊二
Citation	大阪大学低温センターだより. 2006, 134, p. 23-26
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/5493
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

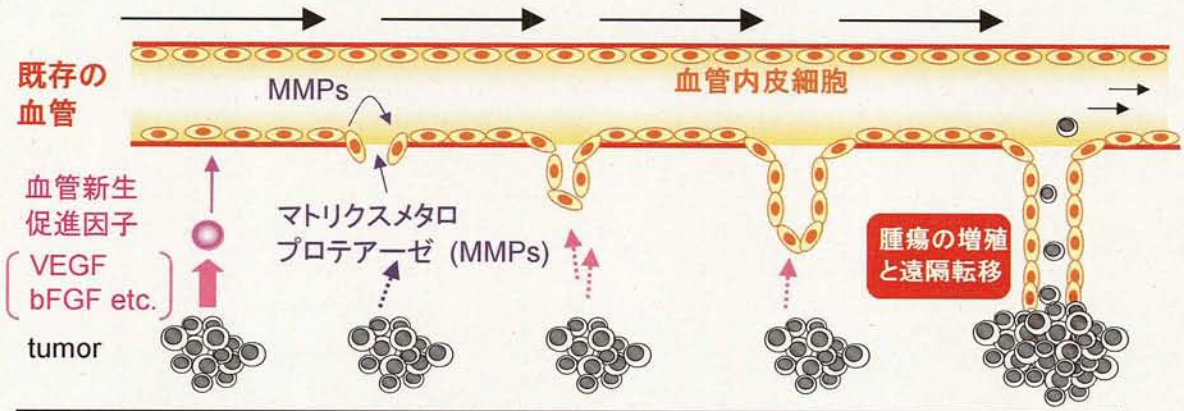
The University of Osaka

副作用の少ない抗がん剤をめざした血管新生阻害剤の探索

薬学研究科　青　木　俊　二（内線　8217）
E-mail: aoki@phs.osaka-u.ac.jp

1．はじめに

現在のがん治療において抗がん剤の果たす役割は非常に大きいが、現在使用されている抗がん剤のほとんどがtoxic compoundであり、正常細胞の増殖も抑制することから副作用が強いことは否定できない。一方、血管新生は、正常個体では創傷の治癒時など限られた時にしか亢進しない現象だが、固形がん腫がある程度の大きさに達すると、血管新生促進物質を放出し周辺組織から血管を誘引し栄養分を獲得して増殖する（図1）。したがって、血管新生を選択的に阻害する物質は、正常細胞に毒性を示さず固形がんの成長を特異的に抑制することが出来ると考えられており、副作用が少ない新しい抗がん剤として期待されている。そのような背景から、新しい抗がん剤として期待される血管新生阻害剤を探索する目的で、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）に対して選択的増



過程	血管新生促進因子の産生	血管壁の消化	血管内皮細胞の増殖・遊走	血管内皮細胞の管腔形成
ターゲット	血管新生促進因子の阻害（レセプター etc.）	消化酵素(MMP)の阻害剤	血管内皮細胞の選択的増殖阻害	血管内皮細胞の管腔形成並びに裏打ち組織の成熟

図1．腫瘍血管新生過程の模式図。腫瘍血管新生は、一般に、1）がん細胞が生産する血管新生因子の放出と、既存の血管内皮細胞に存在するレセプターへの結合、2）刺激を受けた血管内皮細胞やがん細胞自身からのMMPなどのプロテアーゼ生産による基底膜の消化、3）がん細胞が生産する血管新生因子の刺激による血管内皮細胞の遊走・増殖、4）血管内皮細胞の管腔様構造形成および裏打ち組織の発達による新生血管の形成、の各過程を経て起こると考えられている。各過程には、複数の因子の関与が明らかとなっており、どの過程を阻害しても血管新生が抑制できると考えられている。

殖抑制を示す化合物を底生海洋生物成分より探索した。

2．Bastadin類のHUVECに対する選択的増殖抑制効果

ヒト咽頭上皮がん細胞KB3-1とHUVECに対する増殖抑制試験を行い、HUVECに対して選択的に増殖抑制を示す化合物の探索を行った。種々の底生海洋生物の抽出エキスについて検討し、活性の見られたインドネシア・スラベシ島で採集した海綿から、活性物質としてブロモチロシン誘導体bastadin類を単離した（図２）。主成分のbastadin 6は、HUVECに対してKB3-1細胞の約10倍の選択毒性を示し、HUVECを血管新生因子であるVEGFまたはbFGF依存性の条件で増殖させた際には、その選択性は約40倍にまで増強された（表１）。さらに、神経芽細胞腫Neuro2A、慢性骨髄性白血病細胞K562、繊維芽細胞3Y1などの細胞株と比較してもHUVECに対して約20～100倍の選択毒性を示した。一方、doxorubicinやetoposideといった既存の抗がん剤にはこのような選択性は見られなかった（表１）。

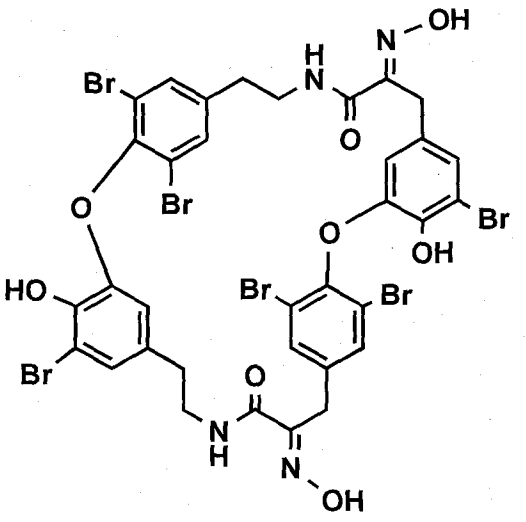


図２．Bastadin 6の化学構造。ブロモチロシンの四量体で特徴的なオキシム基を有する。

表１．Bastadin 6と既存の抗がん剤の血管内皮細胞に対する選択的増殖抑制効果の比較（IC50＝μM）

agents / Cell line	bastadin 6		doxorubicin		etoposide	
	IC_{50}	S.I.	IC_{50}	S.I.	IC_{50}	S.I.
HUVECs（VEGF）[a]	0.052	1	0.22	1	3.2	1
HUVECs（bFGF）[b]	0.052	1	0.18	0.8	3.3	1
HUVECs（Normal）[c]	0.18	3.5	0.13	0.6	1.6	0.5
KB3−1	2.1	41	0.36	1.6	4.3	1.3
N2A	1.8	35	0.40	1.8	1.1	0.3
K562	0.85	17	0.1	0.4	0.91	0.3
3Y1	5.5	106	0.52	2.4	8.0	2.5

1）[a,b] 増殖因子としてVEGFもしくはbFGFのみを用いた培養条件

2）[c] 基本の増殖培地を用いた培養条件

3）S.I. = Selective Index：各種細胞に対するIC_{50} / HUVECに対するIC_{50}

3．血管内皮細胞の遊走化および管腔形成に対するbastadin類の抑制効果

血管新生の過程では、血管基底膜の消化後、血管新生因子やサイトカインなどの働きによって血管内皮細胞の遊走性が活性化されることから、血管内皮細胞の遊走化を阻害する化合物が血管新生

阻害剤として開発されている。そこで、ケモタキシスチャンバーを用いてbastadin 6の血管内皮細胞の遊走化に対する作用を検討した。フィブロネクチンを塗布した多孔膜上にHUVECを播種し、膜を通過する細胞数で細胞の遊走性を評価した結果、bastadin 6は1μM、4時間処置でVEGF刺激によって誘導されるHUVECの遊走化を阻害した。また、血管新生の際には、血管内皮細胞が管腔様構造を形成する過程（tube formation）が必須である。そこで、bastadin 6のHUVECを用いた管腔形成に対する作用を検討した。HUVECを血管新生因子存在下matrix上に播種し、誘導された管腔形成に対する作用について検討した結果、bastadin 6を0.1μM、12時間処置することでbFGFおよびVEGFによって誘導されるHUVECの管腔形成を阻害した。

4．*In vivo*モデルにおけるbastadin類の血管新生抑制作用および抗腫瘍効果

次に、マウス角膜法を用いて*in vivo*でのbastadin類の効果を検討した。マウス角膜に血管新生因子を含有するペレットを挿入し、5日後に角膜に誘導された新生血管の有無により効果を判定した。その結果、ペレット挿入後1日目から3日目までbastadin 6を100mg/kg/day 腹腔内投与したマウスにおいては血管新生が完全に抑制されており、*in vivo*でのbastadin類の血管新生阻害作用が確認された（図3）。また、腫瘍移植モデルにおけるbastadin類の抗がん作用を評価した。ヒト扁平上皮癌細胞A431をヌードマウスの皮内に移植し、bastadin 6を腫瘍移植1日目から7回、一日おきに2週間投与した群と腫瘍移植7日目から一日おきに2週間投与した群における抗腫瘍効果を検討した。その結果、100mg/kgを腹腔内投与した群では、どちらの投与スケジュールにおいても腫瘍の増殖抑制効果が確認された（図4）。

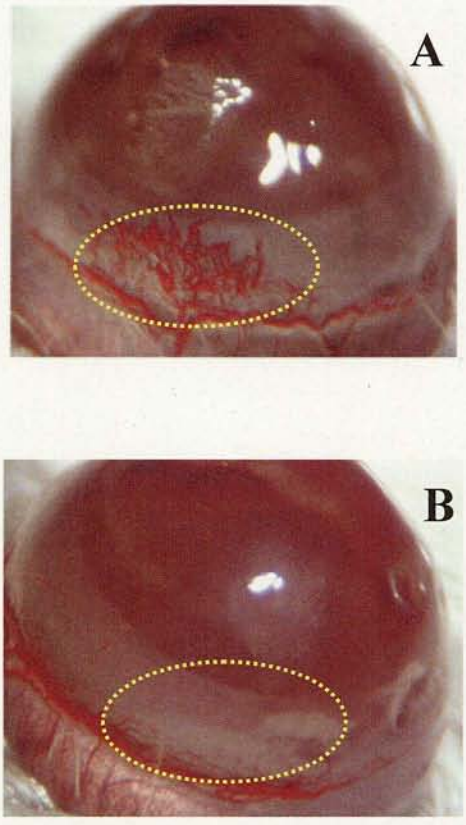


図3　*In vivo*血管新生モデルにおけるbastadin 6の抑制効果。マウスの角膜に血管新生因子（200ng/pelletのVEGF）を含ませたペレットを挿入すると数日後に新生血管が誘導されるが（A）、bastadin 6（100mg/kg/day, i.p.×3）を投与することによって、新生血管の誘導が抑制されている（B）。

Bastadin類は、血管新生阻害作用に基づく抗がん剤リード化合物としての展開が期待される。

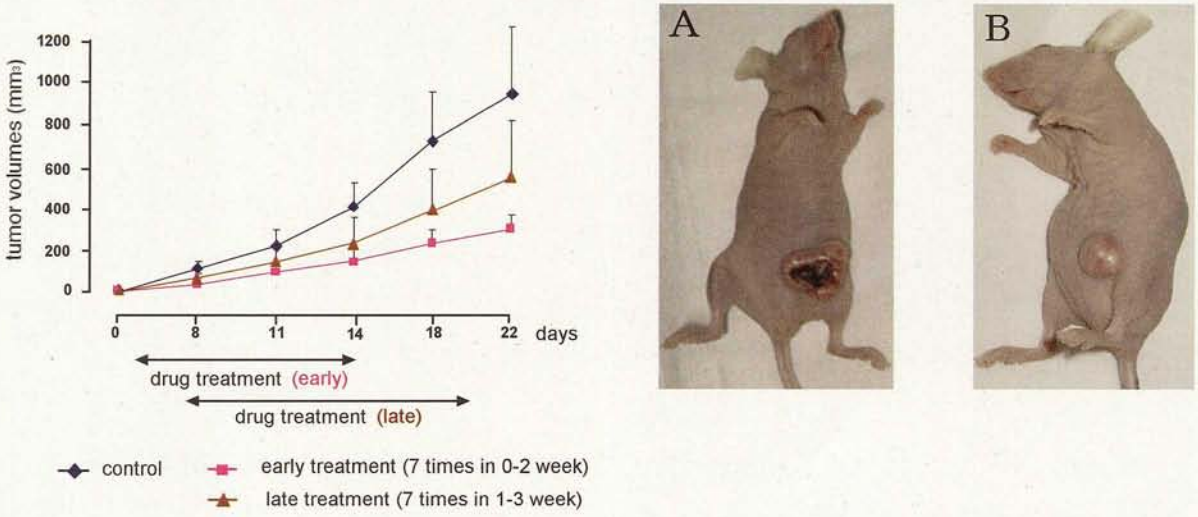


図４．*In vivo*腫瘍移植モデルにおけるbastadin 6の増殖抑制効果。ヌードマウスにヒト固形癌を移植すると腫瘍の成長が見られるが（A）、bastadin 6を投与することで腫瘍の成長が明らかに抑制されている（B）。