The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Studies on the Development of Anticancer Fusicoccin Derivatives which Synergize with Interferon-α |
| Author(s) | 井上, 崇嗣 |
| Citation | 大阪大学, 2010, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/58010 |
| 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

【34】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 井上崇嗣（いのうえたかつぐ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（理　学） |
| 学　位　記　番　号 | 第　２３５６４　号 |
| 学位授与年月日 | 平成22年３月23日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第４条第１項該当<br>理学研究科化学専攻 |
| 学　位　論　文　名 | Studies on the Development of Anticancer Fusicoccin Derivatives which Synergize with Interferon-α<br>（インターフェロンαと共同して抗がん活性を示すフシコクシン誘導体の創製に関する研究） |
| 論　文　審　査　委　員 | （主査）<br>教　授　加藤　修雄<br>（副査）<br>教　授　笹井　宏明　　教　授　深瀬　浩一 |

## 論文内容の要旨

フシコクシン（FC）類およびコチレニン（CN）類は互いに酷似した構造を有するジテルペン配糖体である。1970年代に相次いで単離されて以来、両者はその強力な植物ホルモン様活性（気孔開口や発芽誘起等）を基に、植物ホルモンの作用機構解明のためのツールとして汎用されてきた。また、穀物の発芽率向上や寄生雑草に対する自殺的発芽誘起を目的として、農薬への応用も検討された経緯もある。近年、CNが単剤投与により白血病細胞対して分化誘導活性を、インターフェロンα（IFNα）との併用投与によって相乗的に固形癌に対してアポトーシス誘導効果を示すことが明らかとなり、医薬候補化合物として期待されたが、現在生産菌の死滅により供給不能であることから、その代替化合物の創製が急務となっている。このような背景の下、①構造の酷似したFC類からCN代替化合物を創製すること、②IFNαと共同したアポトーシス誘導機構を解明することを目的として研究を行った。

これまでFC類とIFNαとの併用に関する知見は得られていなかったため、天然のFC類およびCN類を用いた構造活性相関から得られた結果を基に、種々のFC誘導体を合成して再度構造活性相関研究を行った。結果として、アグリコン部に導入された水酸基の位置が活性に強く影響すること、特にCN類のみが有する３位水酸基が活性を飛躍的に向上させることを見出した。高活性な誘導体単剤による分化誘導活性も合わせて評価したところ、こちらもCN類と同等の活性を有することが明らかとなり、CNの代替化合物を創製することに成功した。

過去の知見では、CNとIFNαとの併用によるアポトーシス誘導はTRAIL-DR5経路の活性化に起因しており、一方、植物ホルモン様活性は、真核細胞に普遍的に存在する14-3-3タンパク質をFC/CN受容体とし、$H^+$-ATPaseのリクルートにより三者会合体を形成することで、$H^+$-ATPaseを不可逆的に活性化することに由来すると示されている。そこで14-3-3を介した作用機構が抗がん活性にも該当すると仮定し、FC誘導体も14-3-3を介して三者会合体を形成し、さらにIFNαと共同してTRAIL-DR5経路を活性化するという作業仮説を立てて研究を行った。まずFC誘導体がIFNαとの共同によりTRAIL-DR5経路を活性化することを*TRAIL*および*DR5*の過剰発現により確認した。続いて両遺伝子の転写制御を担うp53の挙動を解析したところ、DR5がp53依存的に発現されることが確認されたが、14-3-3の七つのisoformの一つ14-3-3ζのノックダウンにより、この発現誘導が打ち消されたことから、14-3-3ζを介してアポトーシスを誘導することが明らかとなった。14-3-3ζは発がんに関わる報告はされているが、制がんに関する知見は本研究が最初の例である。さらにIFNαが活性化するJAK-STAT経路下に存在し、細胞成長に関与するAktが併用投与時において不活性化されることから、この作用がIFNαの抗がん活性を飛躍的に高める可能性があることを見出した。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、単剤投与により白血病細胞対して分化誘導活性を、インターフェロンα（IFNα）との併用投与により相乗的に固形癌に対してアポトーシス誘導効果を示すジテルペン配糖体・コチレニン（CN）の活性に注目し、生産菌の死滅により供給不能となったCNの代替化合物を類縁のフシコクシン（FC）から創製するとともに、IFNαと共同したアポトーシス誘導機構を解明することを目的として展開した研究成果を纏めたものである。

まず、天然のFC類およびCN類を用いた構造活性相関から得られた知見を基に、種々のFC誘導体を合成して詳細な構造活性相関研究を行った。結果として、IFNαと共同したアポトーシス誘導活性がアグリコン部に存在する水酸基の位置に強く影響されること、特にCN類のみが有する３位水酸基の存在が活性を飛躍的に向上させることを見出した。３位水酸基を有する合成FC誘導体は、CN同様分化誘導活性も併せ持つことも確認し、CNの代替化合物の創製に成功している。

CNとIFNαとの併用によるアポトーシス誘導はTRAIL-DR5経路の活性化に起因しており、一方、CN/FCが有する植物ホルモン様活性は、真核細胞に普遍的に存在する14-3-3タンパク質とそのクライアントタンパク質を含む三者会合体形成に起因するとされている。そこで、本論文では、CNとIFNαとの併用によるアポトーシス誘導活性も14-3-3タンパク質を介した作用機序であるとの作業仮説を立てて研究を展開した。すなわち、新たに創製したCN代替化合物であるFC誘導体も14-3-3タンパク質の介在を経てTRAIL-DR5経路を活性化するという仮説である。まずFC誘導体がIFNαとの共同によりTRAIL-DR5経路を活性化することをTRAILおよびDR5の過剰発現により確認した。続いて両遺伝子の転写制御を担うp53の挙動を解析し、DR5がp53依存的に発現されることを確認した。さらに、ヒト14-3-3タンパク質に知られる七つのisoformのうち、14-3-3ζのノックダウンにより、このアポトーシス誘導が打ち消されることから、14-3-3ζが関与した作用機序であることを明確に示した。14-3-3ζは発がんに関わる報告はされているが、制がんに関する知見は本研究が最初の例である。さらにIFNαが活性化するJAK-STAT経路下に存在し、細胞成長に関与するAktが併用投与時において不活性化されることから、この作用がIFNαの抗がん活性を飛躍的に高める可能性があることを見出した。

以上のように、本論文は、医薬候補化合物として期待されたものの、その供給が断たれたCNの代替化合物をFC類から合成することで、今後の抗がん剤開発への道を拓くともに、IFNαとの併用によるアポトーシス誘導活性に14-3-3ζが介在していることを初めて明らかにした。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。