

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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	井上 崇 嗣
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 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 (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) 教授 加藤 修雄 (副査) 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、農業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に対して分化誘導活性を、インターフェロン α (IFN α)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、②IFN α 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 IFN α 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 IFN α 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 IFN α 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 IFN α 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 14-3-3 ζ 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、14-3-3 ζ 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。14-3-3 ζ 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 IFN α 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 IFN α 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に対して分化誘導活性を、インターフェロン α (IFN α)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、IFN α 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、IFN α 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 IFN α 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 IFN α 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 IFN α 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、14-3-3 ζ 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、14-3-3 ζ が関与した作用機序であることを明確に示した。14-3-3 ζ 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 IFN α 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 IFN α 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ともに、IFN α との併用によるアポトーシス誘導活性に 14-3-3 ζ 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。