

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐藤文治

癌は日本人の死亡原因の1位を占め、その治療法も発達してきたが、白血病や一部の固形癌を除いて有効な癌化学療法剤はほとんど存在しないのが現状である。分子生物学の急速な進歩にともない、癌細胞の性質が明らかになることによって、特定分子を抗癌作用の標的とする「分子標的」の考え方が導入されるようになった。近年、臨床で使用されるようになったタキソールは微小管の重合を促進する作用を有し、乳癌や卵巣癌に対して有効である。本研究は、タキソールと類似の作用を有する化合物を微生物起源から探索することを目的として行ったもので序論およびそれに続く5章から成る。

まず、序論では、これまでの癌化学療法剤の歴史と現状について外観し、微小管作用物質について詳しく述べている。なかでも、タキソールの重合促進作用に注目し、類似の作用を有する化合物を探索することの意義を述べている。

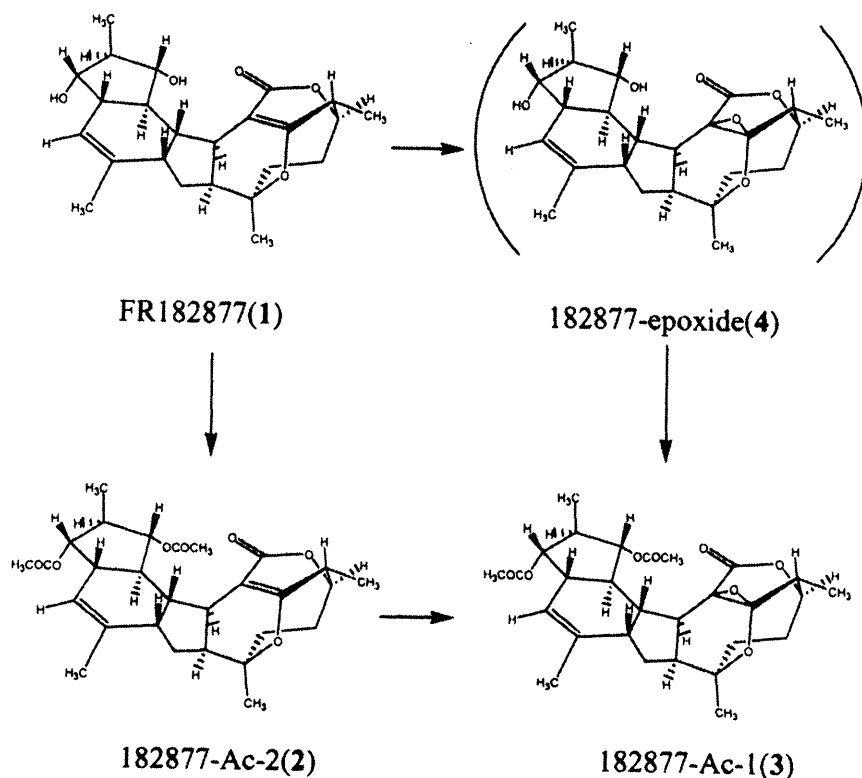
第一章では、BHK-21細胞における微小管重合促進物質と重合阻害物質の作用の違いを詳細に検討し、重合促進物質の作用の特徴を明らかにしてそれをスクリーニングする系を確立したことを述べている。この系を用いてスクリーニングした結果、徳島県の土壌から分離した一放線菌が新規化合物FR182877を生産していることを見出した。

第二章では、FR182877生産菌の形態学的観察、培養性状、生理試験などの結果から、本菌が *Streptomyces* 属に属することをつきとめ、この菌株を *Streptomyces* sp. No. 9885株と同定したことを述べている。本菌株は通常の *Streptomyces* 属の放線菌とは異なり、グリセロール資化性がないという特徴を有していた。

第三章では、培養と活性物質の精製について述べている。FR182877の生産は培養2日目から始まり、5日目でピークに達し、その後減少することがわかった。本生産菌100Lの培養上清から、溶媒抽出、シリカゲルクロマトグラフィーおよび逆相クロマトグラフィーにより精製し、238mgのFR182877が得られた。

第四章では、FR182877の構造解析について述べている。各種機器分析データからFR182877(1)の部分構造は解明できたが、1は不安定で徐々に分解したため、1をアセチル化し、2種類のアセチル化物182877-Ac-1(3)および182877-Ac-2(2)を得、2の構造解析から平面構造を、3の構造解析およびX線結晶構造解析から相対立体配置を決定した。以上の結果を基に、1の構造を推定した。1のβオキシ不飽和エステル部分の構造が不安定なため、酸化(エポキシ化)分解物に変換されると推定した。エポキシ化すると、細胞傷害活性はほとんど消失することから、この歪んだ二重結合が活性発現に重要と考えられた。

第五章では、FR182877の生物活性を *in vitro* および *in vivo* の両面から検討している。FR182877は、*in vitro* でヒト固形癌を含む各種の癌細胞に対して、21-73 ng/mlの



IC₅₀ 値で抗癌活性を示し、正常細胞との間に選択性が認められた。FR182877 は HT-29 細胞の細胞周期遷移を G₂/M 期で停止させたことから、期待したとおり微小管作用物質であると推定された。そこで、精製微小管タンパク質を用いて重合に対する効果を調べたところ、タキソールと同様に重合を促進することがわかったが、その速度論はタキソールが投与直後から効果を表わすのに対して FR182877 は濃度に応じて重合促進活性を示すまでにラグタイムが存在し、作用機作が異なっていることがわかった。また、FR182877 のマウス白血病細胞 P388 に対して 1.6-6.3 mg/kg で延命効果を示し、マウス大腸癌細胞 Colon 38 およびマウス悪性黒色腫細胞 B16 に対しても有効性を示した。しかし、本物質は毒性が強いため有効用量範囲が狭く、残念ながら実用への開発は困難と判断された。

以上、本論文は微小管重合促進活性のスクリーニング法を開発し、これを用いて微生物起源から活性物質を探索した結果、*Streptomyces* 属の放線菌が生産する新規化合物 FR182877 を取得し、*in vitro* および *in vivo* で抗癌作用を示し、タキソールとは異なる微小管重合促進の速度論を示すことを突き止めたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。