

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 富川 泰次郎

本研究は、新しい抗癌剤の発見をめざして、癌遺伝子導入細胞に対して選択的に作用する抗腫瘍物質の探索を行ったものであり、序論に続く3章からなる。

序論では、研究の背景、ならびに本研究の目的と意義について述べている。

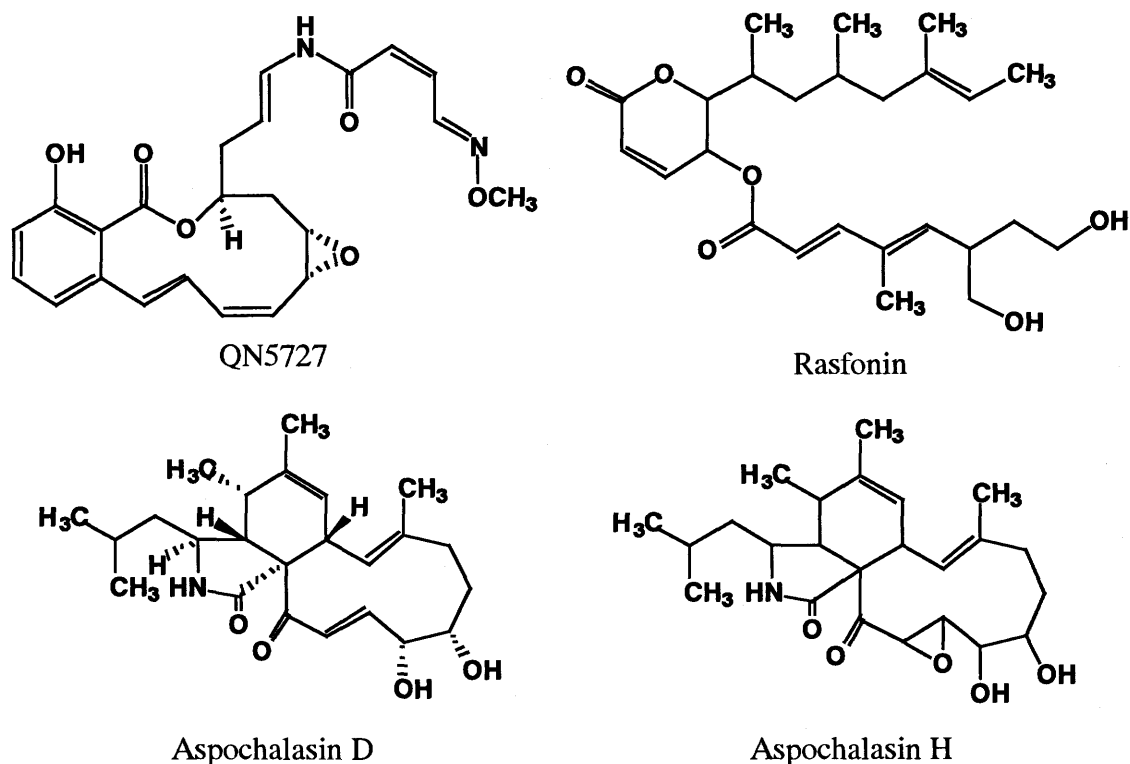
第1章では、子宮頸癌の発癌に関わるヒトパピローマウイルスの E6 および E7 癌遺伝子産物が癌抑制遺伝子産物 p53 および RB をそれぞれ不活性化することに着目し、ヒトパピローマウイルスの E6 および E7 癌遺伝子を導入したラットグリア細胞に対して選択的に細胞死を誘導する物質の探索を行った。その結果、土壌分離細菌 *Pseudomonas* sp. QN05727 株の培養液から新規活性物質 QN5727 を見いだした。

高分解能 FAB-MS により、QN5727 の分子式は  $C_{23}H_{24}N_2O_6$  と決定した。 $-12^{\circ}C$  の低温条件下で測定した QN5727 の NMR において、互いに類似した2組のピークが 1:1 の積分比で観測された。COSY および HMBC スペクトルによる構造解析の結果、両者はベンゾラクトンエナミド構造を含む同一の平面構造を有していることが判明した。NOE およびスピン結合定数を解析した結果、両者が配座異性体であることが判明するとともに、図に示すような立体構造が示された。さらに QN5727 を塩酸-メタノールで処理して得られたメタノール付加体に改良 Mosher 法を適用することにより、QN5727 の絶対立体配置を決定した。

QN5727 はヒトパピローマウイルスの E6 および E7 遺伝子導入ラットグリア細胞に対して低濃度で ( $IC_{50}$  4.2 nM) アポトーシスを誘導し、*ras* や *src* により形質転換したラット 3Y1 細胞の G1 期停止を誘導した ( $IC_{50}$  *ras*-3Y1 4.5 nM、*src*-3Y1 14 nM)。これらの細胞において QN5727 はサイクリン依存性キナーゼ阻害蛋白質 p21<sup>WAF1</sup> の発現を上昇させた。一方、正常 3Y1 細胞に対する  $IC_{50}$  値は上記細胞と比較して 10~30 倍以上の高い値を示し ( $IC_{50}$  140 nM)、QN5727 がこれらの癌遺伝子を導入した細胞に対して選択的な活性を有することが示された。QN5727 で処理した 3Y1 細胞をアクリジンオレンジで染色した結果、アクリジンオレンジによる酸性オルガネラの染色が抑制されたことから、QN5727 が V-ATPase 阻害活性を有することが示された。

第2章では、*ras* の変異によりアポトーシス抵抗性を獲得したがん細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する物質の発見を目的として、*ras* に依存して生存する Ba/F3 細胞に

対して選択的に細胞死を誘導する物質を探索した。その結果、*Talaromyces* sp. 3656-A1 株の培養物中に目的の活性を有する新規物質 **rasfonin** を見いだした。各種 NMR 解析により、**rasfonin** は不飽和 $\delta$ -ラクトンにアシル側鎖が結合した新規化合物であることが判明した。**Rasfonin** は IL-3 非存在下で *ras* を強制発現させた Ba/F3 細胞に対して低濃度でアポトーシスを誘導したが、IL-3 依存的に増殖する Ba/F3 細胞に対する活性はその 10 分の 1 以下であった。また、*Aspergillus* sp. SS15 株の培養物中に、**rasfonin** と同様の活性を有する物質 **aspochalasin D** を見出した。**Aspochalasin D** は *ras* 依存性の Ba/F3 細胞に対して低濃度で選択的な細胞死を誘導したが、同一骨格を有する新規物質 **aspochalasin H** は 25 mg/ml 以下では細胞死を誘導しなかった。**Aspochalasin D** の添加によって細胞死を起こした細胞にはアポトーシスに特徴的な DNA の断片化が観察された。



第3章は実験の部であり、詳細な実験法について述べている。

以上、本研究は、癌遺伝子導入細胞に対して選択的に作用する抗腫瘍物質の探索により発見した **QN5727**、**rasfonin**、**aspochalasin D** および **H** の構造と活性を明らかにしたものであり、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。