

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 竹本 大策

水圏天然物化学研究室には強力な細胞毒性物質が多数保有されているものの、生化学用の試薬として用いられている calyculin A および mycalolide B を除くと、これらの化合物の有効な利用法は見出されていない。また、多くの抗がん化学療法剤はがん細胞における細胞分裂の亢進を利用して、細胞分裂の早い正常細胞に対しても強く作用し副作用をきたす。微生物由来の強力な細胞毒性物質をがん細胞を標的にするよう抗体と結合した、抗がん標的化製剤が医薬品として承認を受けて使用されているが、海洋天然物を用いた同種の研究例や臨床応用例は報告されていない。申請者は、このような背景を踏まえ、前半では2種の深海海綿からの細胞毒性物質の単離・構造決定を、後半では、強力な細胞毒性海洋天然物 theopederin A, calyculin A のがん細胞標的化を試みた。

奄美大島沖、大島新曾根でのドレッジ(-150 m)により採取された深海海綿 *Jaspis serpentina* 1.1 kg の脂溶性画分からは、新規ポリケタイド化合物 poecillastrin D を単離し、その平面構造を決定した。Poecillastrin D は光学活性な白色粉末として得られ、高分解能 ESI-MS スペクトルの解析より、その分子式を $C_{79}H_{131}N_3O_{20}Na$ と決定した。NMR スペクトルを詳細に解析した結果、この化合物は poecillastrin C の C50 位の水酸基がメチル化されたものであることがわかった。Poecillastrin D は P388 細胞、HeLa 細胞に対してそれぞれ IC_{50} 値 18 ng/mL、36 ng/mL の細胞毒性を示した。

伊是名島沖でのビームトロール(-330 m)により採取された未同定種海綿から HeLa ヒト子宮がん細胞に対して濃度非依存的な毒性を示す画分が得られた。毒性試験法の検討により、この成分は遅効性の細胞毒であることが確認されたため、以後は試料添加 2 日後と 6 日後の細胞毒性値を測定し、遅効性の細胞毒性を指標に目的成分の単離を試みた。ゲル濾過クロマトグラフィー、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、順相および逆相の HPLC を用いて順次精製を行い、遅効性細胞毒性化合物 C50-1, C50-2 をそれぞれ約 5 mg 得た。これらの化合物は、添加後 2 日後には 25 μ g/mL の濃度で細胞毒性を示さなかったが、6 日後には IC_{50} 値 0.2 μ g/mL の細胞毒性を示した。NMR スペクトルの解析から、C50-1, C50-2 はいずれも同一の平面構造を有することが判明した。この構造は既知の 10-isocyano-5-cadinen-4-ol と同一のものであるが、NMR スペクトルが文献値と一致しなかったため、立体異性体であることが示唆された。

がん細胞は増殖の亢進および転移・浸潤を行うため、通常細胞より多くの養分を必要とし、より多くの受容体およびタンパク質を発現している（癌特異的抗原）。Transferrin は非ヘム鉄を細胞へと運ぶ糖タンパク質で、がん細胞ではその受容体の過剰発現が認められることから、薬剤

のがん細胞への送達に応用することが可能であるといわれている。このような背景から、申請者は、細胞毒性海洋天然物、theopederin A (onnamide 類から誘導)および calyculin A を transferrin に結合することで、transferrin 受容体に依存した細胞毒性を発現する、抗がんミサイル療法剤の調製を試みた。Theopederin A および calyculin A をそれぞれ transferrin に共有結合を介して結合した複合体を作成した。Calyculin-transferrin 複合体は顕著な細胞毒性を示さなかったが、theopederin-transferrin 複合体は HeLa ヒト子宮がん細胞および MDA-MB-231 ヒト乳がん細胞に対し、1.0 μ M の濃度で細胞毒性を示した。また、過剰の transferrin を添加することでその毒性が低減されたことから、この活性は transferrin 受容体を介して theopederin-transferrin 複合体が細胞内に取り込まれたことで発現したものであると考えられた。

トランスフェリンの化合物による修飾は、反応の再現性およびタンパク質一分子あたりに結合する化合物数の制御が困難であることから、複合体一分子の構造を均一に制御することが重要であると考え、タンパク質の代わりにがん細胞標的能を有することが知られているアミノ酸配列を含む合成ペプチドを用いることとした。合成ペプチドには化合物修飾を行うためのリジン残基を C 末端に導入することで、位置選択的な化合物導入を可能にした。使用したペプチドは、AHNP (抗 HER2 ペプチド) および AHNP bivalent (AHNP 二量体) の 2 種であり、いずれも Fmoc 固相合成法により調製し calyculin A との複合化を行った。

以上、深海海綿を探索対象とすることで、新規細胞毒性物質を単離・構造決定することができた。いずれも興味深い生理活性を発現する化合物であり、研究し尽くされたかに思われる海洋天然物に対する医薬資源探索の可能性を示した。また、毒性の発現により医薬品開発から脱落した化合物の、医薬資源としての再利用の可能性を示した。

以上の研究内容に関する質疑応答を経て、審査委員一同は、申請者に博士の学位を授与して良いとの結論に達した。