

平成23年 3月 31日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20592361  
 研究課題名（和文）海洋生物由来抗腫瘍生理活性物質の探索と新規抗癌剤開発への応用を目指した基礎的研究  
 研究課題名（英文）Search for the bioactive compounds from the marine invertebrates and the basic study of application of them to novel anticancer drugs  
 研究代表者  
 吉岡 幸男（YOSIOKA YUKIO）  
 広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教  
 研究者番号：20335665

研究成果の概要（和文）：口腔扁平上皮癌細胞に対する細胞毒性を指標に，新規の海洋生物由来生理活性物質の抽出・精製を行う．活性の高い物質の同定を行い，新規誘導体の合成と大量合成を試みる．活性物質については構造解析と機能解析を行い，動物実験にてその有用性を検証する．

研究成果の概要（英文）：We extract and refine the bioactive compounds from the marine invertebrates to a index of cytotoxicity against squamous cell carcinoma cells. We pick up some high activity ones from many bioactive compounds and identify them and try to compose some novel derivatives as massive as we can. We analyze their constitution and function of high activity ones, and inspect of their utility by animal experiments.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：①海洋生物 ②生理活性物質 ③抗腫瘍効果 ④血管新生 ⑤新規抗癌剤

## 1. 研究開始当初の背景

現在，口腔癌の治療は外科療法，放射線療法，化学療法，および免疫療法による集学的治療がなされており，特に近年術前，術後の補助治療としての化学療法の進歩は著しい．現行の抗癌剤には微生物由来のものも多く，自然界に生存する天然物由来の生理活性物質よりさまざま

まな抗腫瘍薬の開発がなされ医薬品へと応用されている．地球上の大半を占める海洋をすみかとする海洋生物は，敵に対する構造上の防御システムをもたない反面，化学的な防御システムが発達した生物である．そのため海洋生物の多くは地上の生物と異なった代謝システムや生理機能（フェロモン，アロモン，シ

ノモンなど)が備わっており、海洋生物由来の生理活性物質の病原性微生物に対する増殖抑制効果やがん細胞に対する抗腫瘍効果の報告が数多くなされている。我々はそのような特殊な生理機能を有する海洋生物に着目し、海洋生物由来の生理活性物質から新規の抗腫瘍物質を精製しその機能解析を計画した。

## 2. 研究の目的

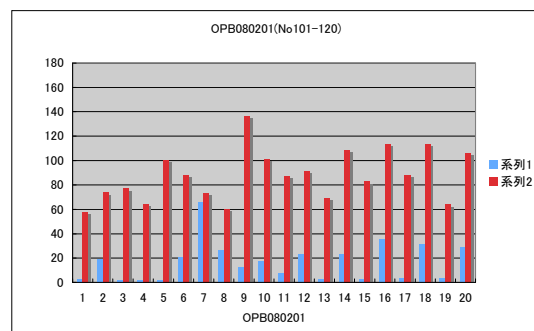
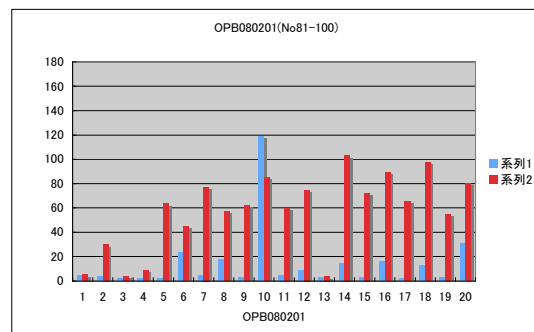
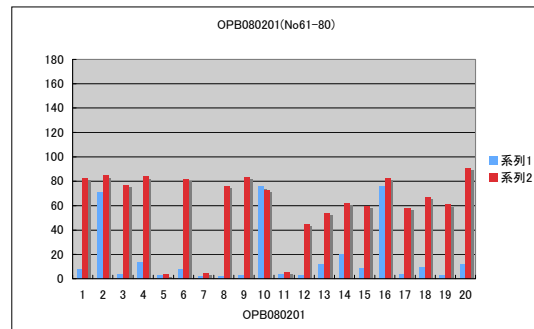
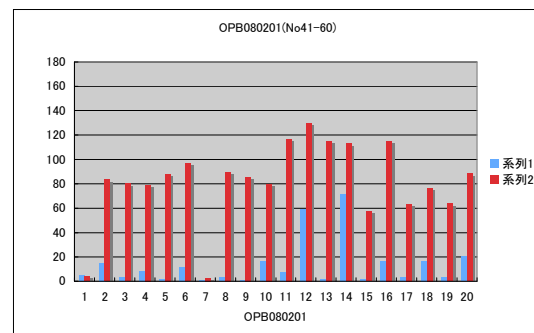
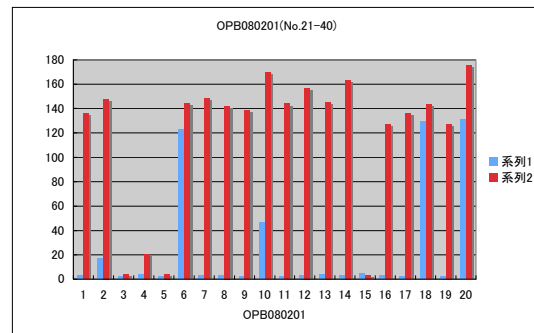
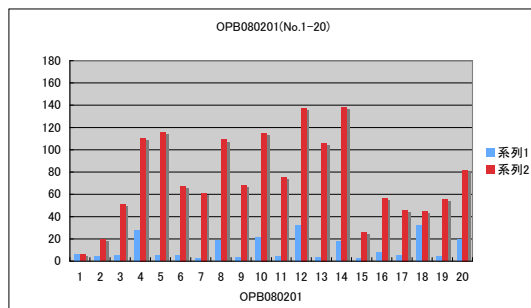
口腔扁平上皮癌細胞に対する細胞毒性を指標に、新規の海洋生物由来生理活性物質の抽出・精製を行う。活性物質の同定を行い、新規誘導体の合成と大量合成を試みる。活性物質については構造解析と機能解析を行い、動物実験にてその有用性を検証する。またファルネシルトランスフェラーゼ阻害活性を有するカイメン由来の生理活性物質 *Spongolactam* およびその誘導体において増殖抑制のシグナル伝達機構について明らかにするとともに動物実験を行い、その有用性を検証する。軟サンゴ由来のアシルスペルミジン誘導体 (MK-II-32, MK-II-33) の口腔扁平上皮癌細胞に対する抗腫瘍効果を検討する。本物質の抗腫瘍効果の候補として増殖因子受容体のチロシンリン酸化阻害, アポトーシス誘導, MAPK シグナルの阻害等を検討する。動物実験では平成18年度申請分で行った腹腔内投与による抗腫瘍効果を再検討し、静脈内投与および経口投与による効果を検討する。

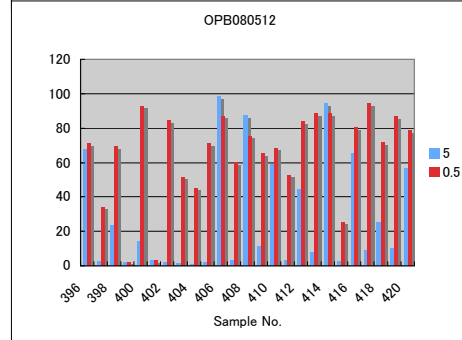
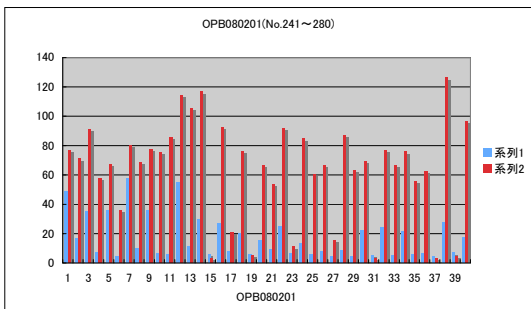
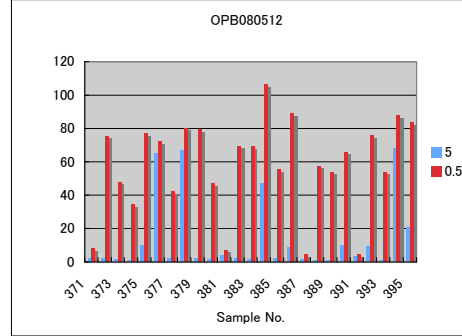
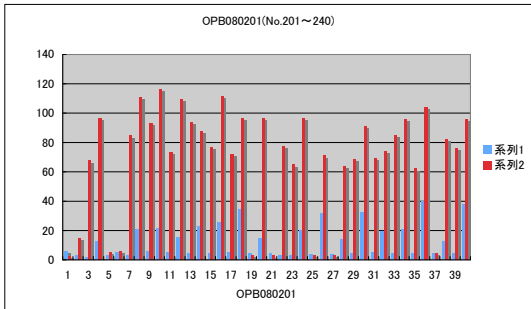
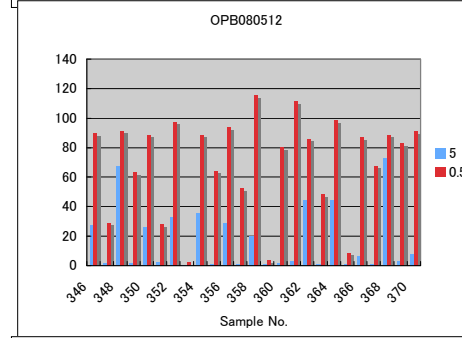
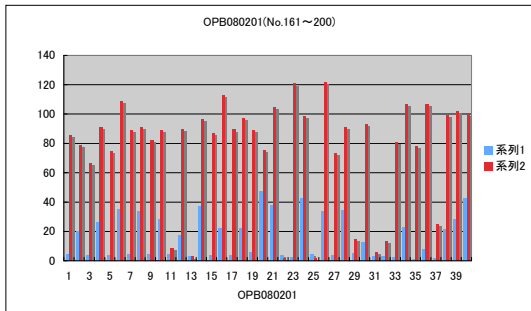
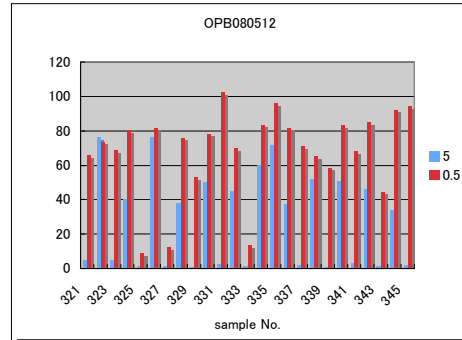
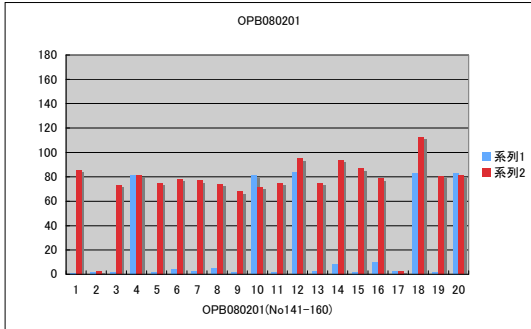
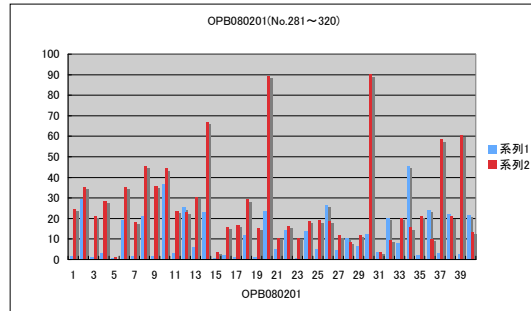
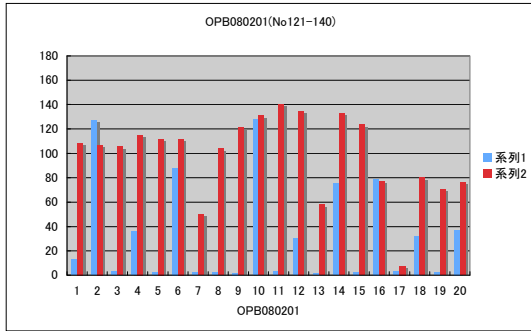
## 3. 研究の方法

- ①生理活性物質の精製・分離
- ②扁平上皮癌細胞に対する毒性試験
- ③活性物質の構造解析ならびに機能解析
- ④ *Spongolactam* およびアシルスペルミジン化合物の機能解析
- ⑤ *Spongolactam* およびアシルスペルミジン化合物を用いた動物実験

## 4. 研究成果

海洋生物由来生理活性物質 420 種類のサンプルに対し細胞毒性試験を行った。





最終濃度 5  $\mu$ g/ml および 0.5  $\mu$ g/ml の 2 点

でアッセイを行った結果、0.5  $\mu$ g/ml で control(DMSO)に対し 90%以上の増殖抑制効果（試薬処理の細胞数/コントロールの細胞数 $\leq$ 10%）を示した抽出物は以下の27種類であった。OPB080201-171,173,182,185,192,201,205,206,219,221,225,227,237,241,245,255,259,267,271,275,277,279,285,295,308,311,312

さらに低濃度処理での効果を検討するために、これらの試薬について最終濃度が0.005, 0.05, 0.5, 5  $\mu$ g/mlになるように処理し、無血清培養した。27種類のうち再現性の得られなかった試薬に対して再検をおこない26種類の試薬で再現性が得られた。このうちNo 312を除く25種類の試薬で初回同様の強力な増殖抑制効果がみられた。特にOPB080201-173, 201, 227, 237は0.005  $\mu$ g/mlで抑制効果を示した。

海洋生物抽出物320検体(OPB080201-1~320)の細胞毒性試験を行い、活性が顕著で、且つ量的確保が可能なサンプル3つについて、活性物質の探索を行い、以下の結果を得た。活性本体はいずれも既知物質であった。

(1) OPB080201-35 (沖縄産ソフトコーラル酢酸エチル画分)

シリカゲル画分AK-I-155-3から3種のプロスタノイドを得たが既知物質であった。155-2, 155-4にも複数の類縁プロスタノイドが含まれているようだが、過去にソフトコーラルから多数の細胞毒性プロスタノイドが発見されていることから、これらの類縁体も既知物質であると思われる。

(2) OPB080201-93 (沖縄産海綿 *Cliona solida* 酢酸エチル画分)

強い活性画分GS-I-10-3は、海綿由来既知物質 aragusterol C であり、1桁弱い活性画分は既知物質 aragusterol B と C を含

む混合物であった。

(3) OPB080201-23 (沖縄産海綿 *Petrosia* sp. 酢酸エチル画分)

活性画分AK-I-192-3, 192-4を、上記のNo.93から得れた aragusterol 類とTLCで比較することにより、これらは aragusterol 類と考えられた。

現在も活性のある物質は構造解析を行っている途中である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1. 偽悪性変化を伴った下顎歯肉腫瘍の1例  
吉岡幸男 小川郁子 林堂安貴 虎谷茂昭  
高田隆 岡本哲治  
日本口腔科学会雑誌 59(2):63-67 March 2010 査読あり

[学会発表] (計2件)

1. 下顎粉碎骨折を伴った広範囲な口腔顎顔面外傷の治療の一例

吉岡幸男 虎谷茂昭 林堂安貴 竹末奈七子 伊藤翼 久保隆靖 高本宗男 広橋伸之 谷川攻一 岡本哲治  
第12回日本口腔顎顔面外傷学会総会学術大会 於広島県民文化センター 平成22年7月17日

2. 下顎歯肉に発生した inflammatory gingival hyperplasia with pseudomalignant change の一例

吉岡幸男 小川郁子 北川雅恵 谷亮治 林堂安貴 虎谷茂昭 高田隆 岡本哲治  
第56回NPO法人日本口腔科学会 中国・四国地方部会 於鳥取大学医学部記念講堂 平成20年11月29日

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉岡 幸男 (YOSHIOKA YUKIO)  
広島大学・医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号: 20335665

(2) 研究分担者

岡本 哲治 (OKAMOTO TETSUJI)  
広島大学・医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号: 00169153

小鹿 一 (OJIKI MAKOTO)  
名古屋大学・農学生命科学研究科・教授  
研究者番号：50152492

虎谷 茂昭 (TORATANI SHIGEAKI)  
広島大学・病院・講師  
研究者番号：90172220

新谷 智章 (SHINTANI TOMOAKI)  
広島大学・病院・助教  
研究者番号：90403518

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：