

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 10 日現在

機関番号：82601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：平成 22 年度 ～ 平成 24 年度

課題番号：22790126

研究課題名(和文) がん細胞に対して選択的にマクロファージ誘導作用を持つ新規がん治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of new cancer therapeutic agents targeting a selective induction of macrophage for cancer cell

研究代表者

大野彰子(OHNO AKIKO)

国立医薬品食品衛生研究所・有機化学部・主任研究官

研究者番号：70356236

研究成果の概要(和文)：がん細胞に対して選択的にマクロファージ誘導作用と MRI 造影剤としての作用を有する新規がん治療薬の開発を目的として、アポトーシス誘導時に現れる‘eat me signal’として知られているフォスファチジルセリン(PS)に腫瘍細胞集積性を示す MRI 造影剤の Gd-DTPA 錯体を付加させた化合物(PS-Gd 誘導體)の設計・合成を行った。本化合物は Gd-DTPA 構造による腫瘍組織への集積と可視化、および PS 構造による腫瘍細胞へのマクロファージの誘導と貪食作用が期待される。

研究成果の概要(英文)：A target-specific phagocytes inducing agent for tumor cells was designed and synthesized. The 'eat-me' signal for phagocytes has been proposed to be phosphatidylserine (PS), which is exposed on the surface of dying cells. Gadolinium contrast medium makes certain tissues, abnormalities or disease processes more clearly visible on a magnetic resonance imaging (MRI) scans. The synthesized gadolinium conjugated PS analogues selectively recognized tumor cells. The PS accumulated on the surface of tumor cells induces macrophage by acting PS as the 'eat me signal' and the tumor cell were efficiently phagocytosed by macrophages.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	0	1,300,000
2011年度	900,000	0	900,000
2012年度	900,000	0	900,000
総計	3,100,000	0	3,100,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：新規抗がん剤，ガドリニウム，フォスファチジルセリン，MRI

1. 研究開始当初の背景

現在のがんの化学療法は、その大部分ががん細胞に対して細胞毒性を誘発する化学物質によるものであり、アポトーシス等の機構でがん細胞を除去する。しかしながら、抗がん剤は正常細胞に対しても同様の細胞障害を与えることから、化学療法における副作用として問題となることが多い。近年はがん細

胞に特有に発現する蛋白等に対して選択的に作用する分指標的薬の開発が行われている。しかし、現在、臨床に使われている分指標的薬に重篤な副作用が報告されていることから、がん細胞に対してより選択性が高く、副作用の少ない抗がん剤の開発が望まれている。

2. 研究の目的

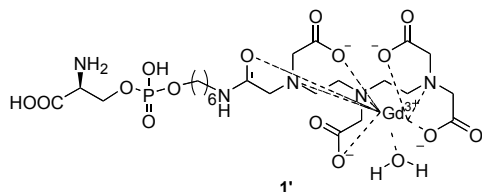
本研究はがん細胞に対して選択的にマクロファージ誘導作用とMRI造影剤としての作用を有する新規がん治療薬の開発を目的とする。細胞がアポトーシスを引き起こすと、細胞はeat me シグナルと呼ばれる分子を細胞表面に出し、マクロファージがその分子を認識して細胞を貪食する。代表的なeat me シグナルとしては、リン脂質であるフォスファチジルセリン (PS) が知られている。一方、現在の医療現場において、核磁気共鳴画像法 (MRI) の造影剤としてガドリニウム (Gd) のジエチレントリアミン五酢酸配位体(DTPA-Gd) が腫瘍細胞の検出に利用されている。そこで、アポトーシス誘導時に現れる‘eat me signal’として知られているフォスファチジルセリン (PS) に腫瘍細胞集積性を示すMRI造影剤のGd-DTPA錯体を付加させた化合物(PS-Gd誘導体)を創製する。

3. 研究の方法

標的となるがん細胞 (網内系組織) に対して選択的なマクロファージ誘導作用を持つ新規がん治療薬 PS-Gd 誘導体の分子設計を行う。具体的には、PS 構造と Gd 配位子の候補となる構造を数種類組み合わせることで PS-Gd 誘導体を設計し、それぞれについて分子軌道法などの化学計算を実行し誘導体の電荷密度の予測と配座解析によって、化合物の絞り込みと構造最適化を行う。候補化合物については、合成経路の検討を行い、ホスファチジルセリン誘導体の簡便な合成法を確立する。さらに本合成法に基づいて、新たに候補化合物の類縁体の設計と合成を行う。大量合成が可能な化合物については、生物試験に必要な化合物の大量合成を行う。

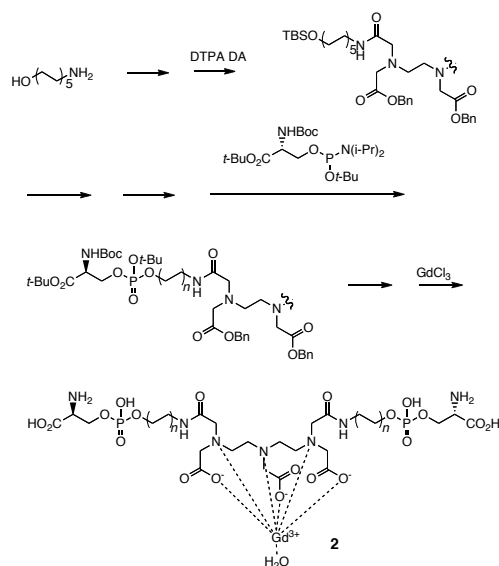
4. 研究成果

(1) フォスファチジルセリン (PS) に腫瘍細胞集積性を示すMRI造影剤のGd-DTPA錯体を付加させた化合物(PS-Gd誘導体)として**1'**を設計した。この化合物を基本骨格として、多くの類縁体を設計した。それぞれの化合物については分子軌道計算を行い、電荷密度、多極子モーメント、分極率、熱力学定数等を求め、候補化合物のがん細胞膜およびマクロファージの貪食促進因子との結合性について検討を行った。その結果、腫瘍細胞集積性とマクロファージ誘導能を有する化合物として**2**を設計できた。



(2) 構造最適化した化合物について合成ルートの検討を行い、複数の合成ルートを確認した。最も高収率で合成可能なルートを以下に示す。

脱水型のジエチレントリアミン五酢酸にアミノアルキルアルコールを2分子反応させてアルキル側鎖を伸ばした後、未反応のカルボン酸をベンジルエステルへと変換した。さらに末端の水酸基に側鎖の水酸基がリン酸tert-ブチルアミダイト誘導体であるN-Bocセリン誘導体を塩基触媒を用いて結合させた。TBHPで酸化してリンをリン酸エステルへと変換後、接触還元で脱ベンジル、TFAで脱Bocを行い、さらにGdCl₃を配位させて目的化合物を合成した。



MRI造影剤として利用されているGdは癌細胞への集積性が報告されている。その為、PS-Gd誘導体は癌細胞表面にPSを集積させることが可能となり、癌細胞に選択的にマクロファージによる貪食機構を誘導することが出来る。PS-Gd誘導体は従来の抗癌剤にみられる細胞障害性がない。また、正常細胞はGdの集積性が低いことから、PS-Gd誘導体**(2)**は副作用が少ない癌細胞を標的とした新規抗癌剤として利用できる。さらに、PS-Gd誘導体はGdによるMRI造影剤としての機能を併せ持つため、腫瘍組織の可視化が可能になることから、癌の治療薬とともに、診断と治療経過を観察できる優れた抗癌剤として期待される。

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7件)

- 1) Fukuhara, K., Ohno, A., Ota, Y., Senoo, Y., Maekawa, K., Okuda, H., Kurihara, M., Okuno, A., Niida, S., Saito, Y., Takikawa, O., NMR-based metabolomics of urine in a mouse model of Alzheimer's disease: identification of oxidative stress biomarkers, *J Clin Biochem Nutr.*, 査読有, **52**, 2013, 133–138, DOI: 10.3164/jcfn.12-118
 - 2) Uchiyama, S. Sakamoto, H., Ohno, A., Inaba, Y., Nakagome, H., Kunugita, N.: Reductive amination of glutaraldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone using 2-picoline borane and highperformance liquid chromatographic analysis, *Analyst*, 査読有, **137**, 2012, 4274–4279, DOI: 10.1039/C2AN35230C
 - 3) Ohno, A., Kawanishi, T., Okuda, H., Fukuhara, K.: A New Approach to Characterization of Insulin Derived from Different Species Using 1H-NMR Coupled with Multivariate Analysis, *Chem. Pharm. Bull.*, 査読有, **60**, 2012, 320–324, DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.60.320>
 - 4) Demizu, Y., Okuhira, K., Motoi, H., Ohno, A., Shoda, T., Fukuhara, K., Okuda, H., Naito, M., Kurihara, M.: Design and synthesis of estrogen receptor degradation inducer based on a protein knockdown strategy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 査読有, **22**, 2012, 1793-1796. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.11.086
 - 5) Fukuhara, K., Ohno, A., Ando, Y., Yamoto T., Okuda, H.: A 1H NMR-based Metabolomics Approach for Mechanistic Insight into Acetaminophen-induced Hepatotoxicity, *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 査読有, **26**, 2011, 399-406, DOI: dx.doi.org/10.2133/dmpk.DMPK-11-RG-005
 - 6) Ohno, A., Oka, K., Sakuma, C., Okuda, H., Fukuhara, K.: Characterization of Tea Cultivated at Four Different Altitudes Using 1H NMR Analysis Coupled with Multivariate Statistics, *J. Agric. Food Chem.*, 査読有, **59**, 2011, 5181–5187, DOI: dx.doi.org/10.1021/jf200204y
 - 7) Ohno, A., Kawasaki, N., Fukuhara, K., Okuda, H., Yamaguchi, T.: Complete NMR analysis of oxytocin in phosphate buffer, *Magn. Reson. Chem.*, 査読有, **48**, 2010, 168-172., DOI: 10.1002/mrc.2557
- [学会発表] (計 31 件)
- 1) 太田庸介: NMR メタボロミクスを用いたアセトアミノフェンの細胞毒性機構の解析, 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 27 日, 横浜
 - 2) 大野彰子: カテキンをテンプレートとしたアルツハイマー病予防薬の開発, 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 27 日, 横浜
 - 3) 荒井卓也: AD 治療薬の開発を指向した Aβ1-40 および Aβ1-42 の C 末端モチーフを有するビタミン E 誘導体の合成と Aβ凝集阻害能の解析, 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 27 日, 横浜
 - 4) 長久保貴哉: レスベラトロールをテンプレートとした新規抗酸化物質の開発, 日本薬学会第 133 年会, 2013 年 3 月 27 日, 横浜
 - 5) 大野彰子: AD 治療薬を指向した Aβ の C 末端モチーフを有する Trolox 誘導体の開発, 第 24 回ビタミン E 研究会, 2013 年 1 月 10 日, 東京
 - 6) 福原 潔: メチル基を有するフラボノイド系抗酸化剤の合成と ラジカル消去活性, 第 30 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2012 年 11 月 28 日, 東京
 - 7) Fukuhara, K.: Methyl analogues of quercetin

- for improved radical-scavenging activities, 244th American Chemical Society National Meeting & Exposition, 2012年8月19日, Philadelphia, USA
- 8) Ohno, A.: New approach to quality evaluation for a difference of the high-order structure of peptide/protein drug, 244th American Chemical Society National Meeting & Exposition, 2012年8月19日, Philadelphia, USA
- 9) 大野彰子: NMRを用いた拡張型心筋症モデルハムスターのメタボローム解析, 第65回日本酸化ストレス学会学術集会, 2012年6月6日, 徳島
- 10) 福原 潔: NMRを用いたアルツハイマー症モデルマウスのメタボローム解析, 第65回日本酸化ストレス学会学術集会, 2012年6月6日, 徳島
- 11) 太田庸介: 1H NMRを用いた HepG2細胞のメタホロミクス: APAPの影響, 日本薬学会第132年会, 2012年3月27日, 札幌
- 12) 大野彰子: NMR法による紅茶葉の品質評価, 日本薬学会第132年会, 2012年3月27日, 札幌
- 13) 大野彰子: アミロイド β を標的としたアルツハイマー予防薬の開発, 第23回ビタミンE研究会, 2012年1月27日, 東京
- 14) Ohno, A.: A new NMR-based quality evaluation of biopolymer drug, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, 2011年11月29日, 東京
- 15) Fukuhara, K.: Potential lead for an Alzheimer drug: a peptide that blocks amyloid β induced neurotoxicity, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, 2011年11月29日, 東京
- 16) 大野彰子: 1H NMR - 多変量解析法による異なる高度で栽培・製造された紅茶葉の成分解析, 第4回食品薬学シンポジウム, 2011年10月29日, 東京
- 17) Ohno, A.: New approach for quality evaluation for insulins derived from different species using 1H NMR coupled with multivariate analysis, 242th American Chemical Society National Meeting & Exposition, 2011年8月28日, Denver, USA
- 18) Fukuhara, K.: Novel trolox-C-terminal motifs of A β 42 as neuroprotective agents for the treatment of Alzheimer's diseases, 242th American Chemical Society National Meeting & Exposition, 2011年8月28日, Denver, USA
- 19) 福原 潔: 1H NMRによるアセトアミノフェン誘発肝障害のメタホロミクス, 第64回日本酸化ストレス学会学術集会, 2011年7月2日, 北海道留寿都
- 20) 大野彰子: 抗酸化活性およびアミロイド β 蛋白凝集抑制作用を有する新規アルツハイマー病予防薬の開発, 第64回日本酸化ストレス学会学術集会, 2011年7月2日, 北海道留寿都
- 21) 大野彰子: NMR法によるインスリンの種差の解析手法開発, 日本薬学会第131年会, 2011年3月29日, 静岡
- 22) 福原 潔: 薬物代謝酵素阻害による APAP誘発肝障害の軽減, 日本薬学会第131年会, 2011年3月29日, 静岡
- 23) Fukuhara, K.: Planar catechin derivatives incorporating basic amino acids for chemoprevention of oxidative stress related diseases, International Symposium on Free Radical Research: Contribution to Medicine (FRCM 2011), 2011年1月21日, 京都
- 24) Ohno, A., Kawasaki, N., Fukuhara, K.,

- Okuda, H., Yamaguchi, T. : Application of a multivariate analysis based on 1H-NMR to new approach for quality evaluation of the protein/peptide biological drugs, The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2010年12月18日, Honolulu, USA
- 25) Ohno, A. : ¹H NMR-based metabolomics approach for analysis of APAP hepatotoxicity, The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2010年12月18日, Honolulu, USA
- 26) 大野彰子 : βアミロイドの凝集阻害を標的とした抗酸化活性を有する新規アルツハイマー治療薬の開発, 第29回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2010年11月17日, 京都
- 27) 福原 潔 : 分子内に塩基性アミノ酸を有する平面型カテキン誘導体の抗酸化活性, 第29回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2010年11月17日, 京都
- 28) Fukuhara, K. : Enhanced radical scavenging activities of catechin derivatives incorporating basic amino acids, 240th American Chemical Society National Meeting & Exposition, 2010年8月22日, Boston, USA
- 29) 大野彰子 : ¹H NMR を利用した APAP による肝障害のメタボロミクス, 第63回日本酸化ストレス学会学術集会, 2010年6月25日, 横浜
- 30) 福原 潔 : 2-ニトロイミダゾールの光増感作用の解析, 講演ハイライト (タイトル: 活性酸素が薬になる～身体にやさしい癌治療を目指して～), 日本薬学会第130年会, 2010年3月28日, 岡山
- 31) 大野彰子 : NMR/主成分分析法を利用したオキシトシンの品質評価手法の開発,

日本薬学会第130年会, 2010年3月28日, 岡山

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: フラバノール誘導体-アセトン誘導体付加物, その製造方法並びにそれを利用したアミロイドβ蛋白凝集阻害剤及びアルツハイマー予防又は治療剤

発明者: 福原潔, 大野彰子, 奥田晴宏

権利者: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

種類: 特許

番号: 特願2011-183246

出願年月日: 2011年8月25日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大野 彰子 (OHNO AKIKO)

国立医薬品食品衛生研究所・有機化学部・主任研究官

研究者番号: 70356236

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: