

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14343

研究課題名(和文)ハイブリッドアナログを利用したアプリロニンAの作用機序解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mode of action of aplyronine A using hybrid analog

研究代表者

大好 孝幸(Ohyoshi, Takayuki)

筑波大学・数理物質系・助教

研究者番号：90639303

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):アプリロニンAのマクロラクトン部とスウィンホライドAの側鎖部を持つ、新規ハイブリッドアナログを設計・合成した。このハイブリッドアナログは強力な細胞毒性とアクチン脱重合活性を示した。加えて、アプリロニンAと同様にアクチンおよびチューブリンのタンパク質間相互作用を誘導することも明らかにした。さらに、このハイブリッドアナログを利用し、アミノ酸部位と側鎖部の構造活性相関研究を行った。その結果、トリメチルセリンエステルの重要性、アプリロニンA側鎖部の強いアクチン脱重合活性が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんは日本人の死因第一位であり、その治療法が求められる。アプリロニンAは新規作用機序を持つ抗腫瘍活性物質であるが、天然からの供給、誘導化に制限があるため研究展開が困難である。そこで本研究では、他の天然物とのハイブリッドアナログを設計・合成し、アプリロニンAと同様の作用機序を有する構造簡略型ハイブリッドアナログの創出に成功した。本化合物は供給・誘導の制限を緩和し、今後の研究展開が期待できる。

研究成果の概要(英文):Designed and synthesized aplyronine A-swinholide A hybrid, which consists of the macrolactone of aplyronine A and the side chain of swinholide A. This Hybrid retained strong cytotoxicity and actin-depolymerizing activity. In addition, hybrid induces PPI between actin and tubulin in the manner of aplyronine A. Furthermore, I conducted the structure-activity relationships about amino acid moiety by using hybrid. The trimethylserine ester group was important for potent cytotoxicity. Also, comparing the side chain analogs of aplyronine A and swinholide A, we clarified the side chain analog of aplyronine A was stronger actin-depolymerizing activity.

研究分野：天然物化学

キーワード：ハイブリッドアナログ アプリロニンA スウィンホライドA タンパク質間相互作用 アクチン チューブリン 細胞毒性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんは日本人の死亡原因の第1位であり、その治療法をあらゆる分野から探ることが必要である。抗がん剤治療の面では、既存のものとは異なる作用機序を有する化合物や強力な抗腫瘍活性を持つ化合物の研究が必須である。2016年の調査では、抗がん剤の約65%は天然有機化合物由来であり、抗がん剤開発において天然物化学は大きな役割を担っている。そのような背景のもと、分子量1000を超える海洋天然物であるハリコンドリリンB由来の抗がん剤、エリプリンが上市され、抗がん剤開発において海洋天然物が注目を浴びている。

海洋天然物アプリロニンAは海洋軟体動物アメフラシから研究代表者の研究グループにより単離されたマクロリド化合物であり、その抗腫瘍活性は既存の抗がん剤を大きく上回る(P388白血病マウスに対して、アプリロニンA:T/C=545%、マイトマイシンC:T/C=250%)。2013年に、その強力な抗腫瘍性の作用機序はアプリロニンAが細胞骨格タンパク質であるアクチンとチューブリンとのPPIを引き起こすことで発現すると明らかにした(図1)。しかし、アプリロニンAの作用機序に関して、分子レベルでの理解は十分とは言えなかった。これは、アプリロニンAが天然からの供給量が限られており、17個の不斉中心、分子量1000を超える化合物であり、本化合物自身を用いてのさらなるケミカルバイオロジー研究は、サンプル供給の面、誘導化の面から制限されていた。

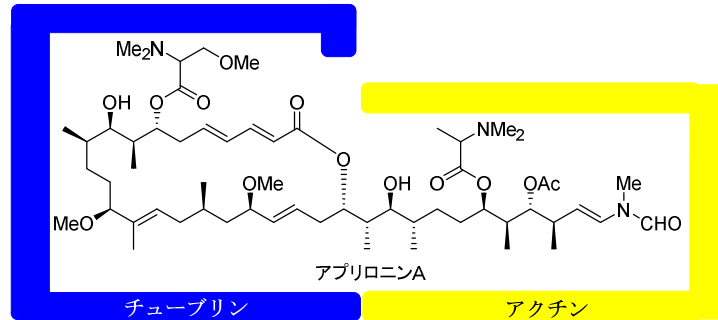
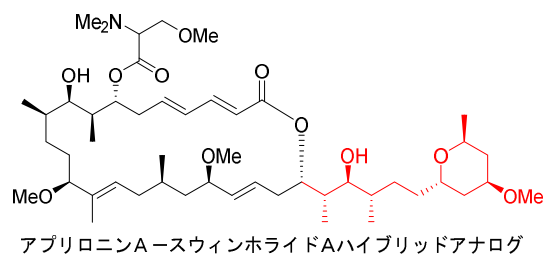
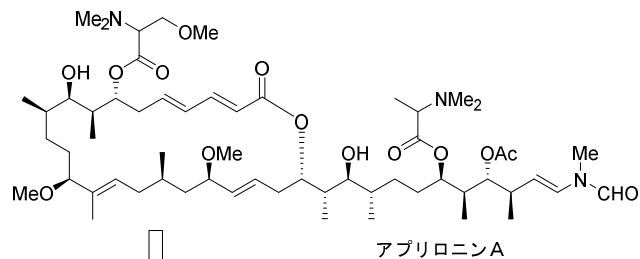


図1. アプリロニンA-アクチン-チューブリン三元複合体の模式図

2. 研究の目的

抗がん剤治療薬にはビンブラスチンやパクリタキセルのようなチューブリンに作用する薬がある。いずれも単独でチューブリンに作用することで微小管の形成を妨げ、細胞分裂を停止させる。一方、アプリロニンAは単独ではチューブリンと作用することはできないが、アクチンとの複合体は強力にチューブリンの重合を阻害する。しかし、アプリロニンA-アクチン複合体がどのようにチューブリンと作用するのかが未解決の「問い」である。アプリロニンAは三元複合体を司る極めて珍しい天然物であり、このような二大細胞骨格タンパク質と三元複合体を形成することを引き金とする抗腫瘍性メカニズムは前例がない。そのためアプリロニンAの作用メカニズムの解明は新規作用機序を有する抗がん剤開発への活路となると期待できる。



3. 研究の方法

アプリロニンAは天然供給・人工供給がともに困難な、希少天然物であった。そこで、アプリロニンAの特異な生物活性を保持する人工類縁体の創出することにした。本化合物がアクチンおよびチューブリンに作用することを念頭においた分子設計を行い、海洋天然物スウィンホライドに着目した。スウィンホライドAは44員環の二量体マクロライドであり、アプリロニンAと同等のアクチン脱重合活性が報告されていた。また、アプリロニンAと同様の位置でアクチンと結合することも明らかになっていた。

すなわち、スウィンホライドのアクチン結合性側鎖部とアプリロニンAのマクロラクトン部を組み合わせたハイブリッドアナログを設計し、化学的に合成することにした。本化合物は側鎖部が簡略化されたことにより、合成工程数の削減が期待された(図2)。

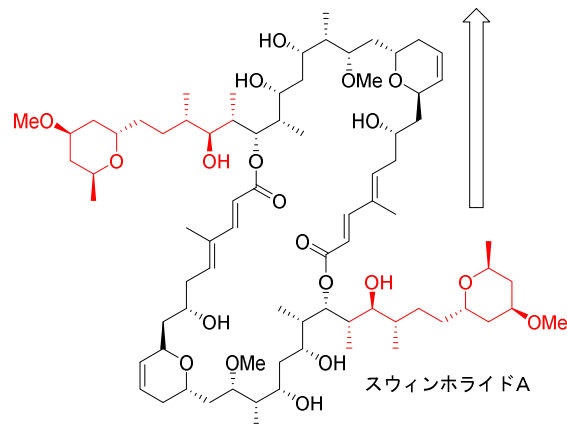


図2. ハイブリッドアナログの設計

4. 研究成果

4-1. ハイブリッドアナログの創出

二つのフラグメントを分子間山口エステル化にて連結後、分子内 NHK カップリングによってマクロラクトン部を構築した。その後、数工程の変換を経て、所望のアプリロニン A - スウィンホライド A ハイブリッドアナログを合成した(図3)。本合成は、アプリロニン A - スウィンホライド A ハイブリッドアナログは 70 段階で合成することができた。これまで、アプリロニン A の合成には 86 段階必要であり、開発した方法は 16 段階の段階数の削減を達成でき、化合物の確保がある程度容易になった。

さらに、合成したアナログはアプリロニン A と同様に強力な抗腫瘍細胞増殖阻害活性およびアクチン脱重合活性を示した。また、その作用機序を調査したところ、アクチンおよびチューブリンのタンパク質間相互作用を誘導することが判明した。本成果は、特異な生物活性を有するアプリロニン A の特異な生物活性を保持する合成および構造簡略型アナログの創出に成功した初の例である。

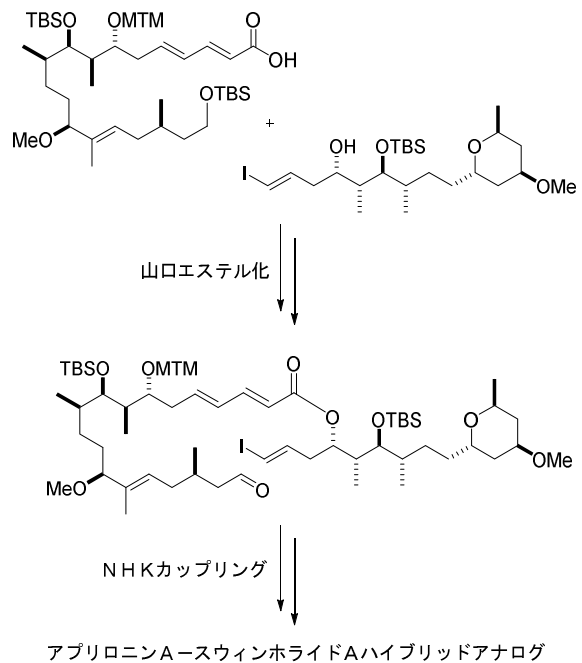


図3. ハイブリッドアナログの合成

4-2. ハイブリッドアナログを利用した構造活性相関

ハイブリッドアナログの創出により、化合物の供給が可能になったことに加え、誘導化が可能になった。そこで、これまで実現できなかったアミノ酸部位の変換を試みた。マクロラクトン部 C7 位に存在するトリメチルセリンエステル基を別のジメチルアミノ基を有するアミノ酸に変換したアナログを合成・生物活性を評価した(図4)。しかし、いずれのアナログも細胞毒性は著しく低下した。この結果より、トリメチルセリン基は極めて重要なアミノ酸であることが判明した。

また、アクチン脱重合活性を有する側鎖部に関してスウィンホライド A の側鎖部を合成・生物活性を評価した。アプリロニン A は側鎖部のみでアクチン脱重合活性を示すことが既に判明しているが、スウィンホライド A 側鎖部は活性を全く示さなかった。

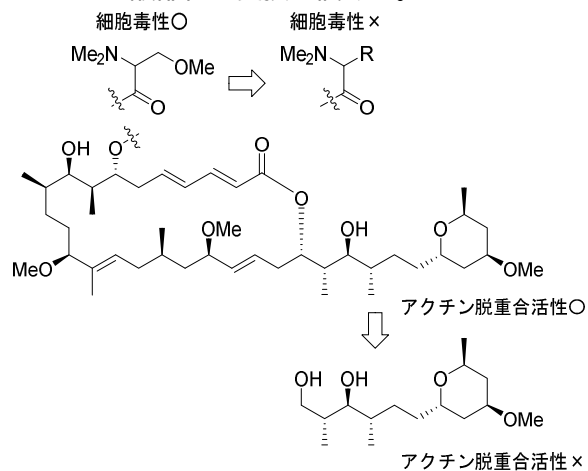


図4. ハイブリッドアナログの構造活性相関研究

以上のハイブリッドアナログの設計・合成・構造活性相関を基にさらなる分子変換を行い、抗がん剤のリード化合物へ発展させる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ohyoshi Takayuki, Akemoto Kei, Taniguchi Ayaka, Ishihara Takuma, Kigoshi Hideo	4. 巻 43
2. 論文標題 Total synthesis of (-)-aplaminal by Buchwald-Hartwig cross-coupling of an aminal	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Journal of Chemistry	6. 最初と最後の頁 18442 ~ 18444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9nj04743c	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takano Atsuhiko, Zhao Yiwen, Ohyoshi Takayuki, Kigoshi Hideo	4. 巻 60
2. 論文標題 Synthetic studies toward swinhoeisterol A, a novel steroid with an unusual carbon skeleton	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 591 ~ 593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2019.01.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohyoshi Takayuki, Mitsugi Keisuke, Higuma Tatsuya, Ichimura Fumitaka, Yoshida Masahito, Kigoshi Hideo	4. 巻 9
2. 論文標題 Concise total syntheses of phelligridins A, C, and D	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 7321 ~ 7323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8RA10346A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ohyoshi Takayuki, Takano Atsuhiko, Namiki Mayu, Ogura Tomotaka, Miyazaki Yuto, Ebihara Yuta, Takeno Koichi, Hayakawa Ichiro, Kigoshi Hideo	4. 巻 54
2. 論文標題 Development of a novel inducer of protein-protein interactions based on aplyronine A	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 9537 ~ 9540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8cc04613a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 三次啓介、大好孝幸、木越英夫
2. 発表標題 細胞毒性物質ヒペルラロン A の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会（2020）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口智成、宮崎悠斗、大好孝幸、木越英夫
2. 発表標題 細胞毒性マクロライド・サイトファイシン B の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会（2020）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菊地いまり・大好孝幸・木越英夫
2. 発表標題 新規アクチン脱重合分子の開拓研究
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会（2020）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 趙 毅文・高野敦弘・大好孝幸・木越英夫
2. 発表標題 海洋産ステロイド swinhoeisterol A の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会（2020）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 TANO, Hikaru; HOSONO, Shu; OHYOSHI, Takayuki; KIGOSHI, Hideo
2. 発表標題 Synthetic study of aplysiasecosterol A, a marine 9,11-secosteroid
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会 (2020)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大好孝幸
2. 発表標題 生物活性天然物の全合成を基盤とした構造活性相関研究
3. 学会等名 第54回天然物化学談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三次啓介、樋熊竜也、市村文孝、吉田将人、大好孝幸、木越英夫
2. 発表標題 -ピロンポリフェノール類の合成と構造活性相関研究
3. 学会等名 第61回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大好孝幸, 明本圭, 谷口綾香, 石原拓磨, 黒田武史, 金子貴裕, 小川裕太, 仙石哲也, 木越英夫
2. 発表標題 海洋産アルカロイド・アプラミナルの生物有機化学的研究
3. 学会等名 第60回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Ohyoshi
2. 発表標題 Development of a novel inducer of protein-protein interactions based on Aplyronine A
3. 学会等名 international congress on pure & applied chemistry (ICPAC Langkawi) 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 趙毅文, 高野敦弘, 大好孝幸, 木越英夫
2. 発表標題 海洋産細胞毒性ステロールSwinhoeisterol Aの合成研究
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会(2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田野輝, 東條翔磨, 大好孝幸, 木越英夫
2. 発表標題 海洋産9,11-セコステロイド aplysiasecosterol Aの合成研究
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会(2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三次啓介, 樋熊竜也, 市村文孝, 吉田将人, 大好孝幸, 木越英夫
2. 発表標題 細胞毒性物質メシマコブノール類の構造活性相関研究
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会(2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大好孝幸, 宮崎悠斗, 野口智成, 並木真悠, 木越英夫
2. 発表標題 サイトファイシン類の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会(2019)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考