

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05722

研究課題名(和文)ハイブリッド型アプリロニンAの高効率合成と抗腫瘍メカニズムの解明

研究課題名(英文) Highly efficient synthesis of aplyronine A hybrid and elucidation of anti-tumor mechanism

研究代表者

大好 孝幸 (Ohyoshi, Takayuki)

筑波大学・数理工学系・助教

研究者番号：90639303

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000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的重要性、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。さらに、新型のハイブリッド分子創出のために、新規アクチン脱重合分子の設計・合成を実施し、アプリロニンAよりも強いアクチン脱重合分子を開発することに成功した。

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、簡略型ハイブリッドアナログとしてアプリロニンA-スウィンホライドAハイブリッドを利用し、構造活性相関を実施し、細胞毒性発現に必要な化学構造が明らかになってきた。今後さらなる構造活性相関を実施することで、新型の抗がん剤開発が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Using a novel hybrid analog of aplyronine A with a macrolactone moiety and a side chain of swinholide A, a structure-activity relationship study concerning the amino acid moiety and the side chain moiety was conducted. The results revealed the importance of trimethyl serine ester and the strong actin-depolymerization activity of the aplyronine A side chain. Furthermore, for the creation of a new type of hybrid molecule, I designed and synthesized a new actin-depolymerizing molecule, and succeeded in developing an actin-depolymerizing molecule stronger than aplyronine A.

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、研究者個人に帰属します。

## 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。近年の調査によると、抗がん剤の約65%は天然物由来であり、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。最近、分子量1000を超える海洋天然物であるハリコンドリニンB由来の抗がん剤、エリプリニンが上市され、抗がん剤開発において海洋天然物が注目を浴びている。また、近年、天然有機小分子と生体高分子とのケミカルバイオロジー研究が活発に行われ、天然物の生体分子認識機能の解明や生物学的役割の理解が求められている。

海洋天然物アプリロニンAはアメフラシから単離されたマクロリド化合物であり、前例のない強力な抗腫瘍活性を示す。最近、申請者のグループで、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タンパク質間相互作用を引き起こすことで発現する(図1)。本機構の分子レベルでの理解は不十分であるが、天然からの供給量が限られ、17個の不斉中心、分子量1000を超える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る。

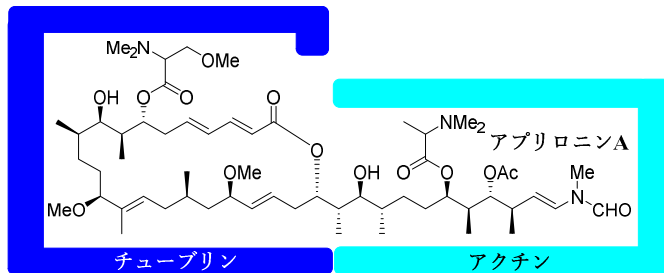


図1. アプリロニンA-アクチン-チューブリン三元複合体の模式図

### 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は未解決の「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

チューブリンとの結合様式を探るためには、その結合サイトであるマクロラクトン部を修飾することが必須である。しかし、アプリロニンAは天然供給・人工供給がともに困難な、希少天然物である。さらに、側鎖部しか化学変換できないという問題点があった。そこで、既に開発済みのアプリロニンA-スウィンホライドAハイブリッドを利用することとした(図2)。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の側鎖部を併せ持つ簡略型ハイブリッド化合物を創出しており、このハイブリッドを利用して構造活性相関研究を実施することにした。特に活性発現に最も重要であると考えられていたC7位のトリメチルセリンエステル基の変換、および側鎖部のアクチン脱重合能を評価することとした。

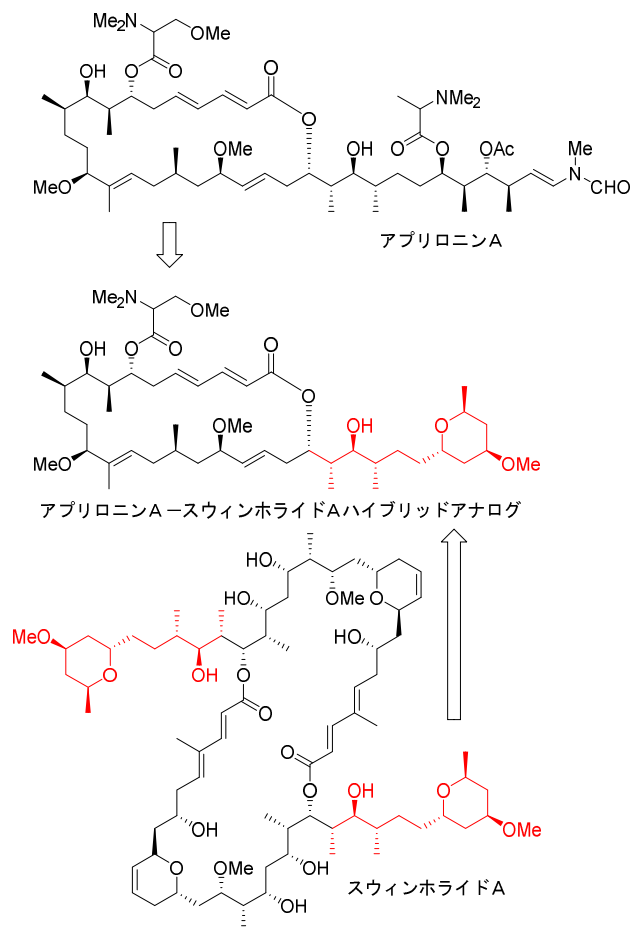


図2. ハイブリッドアナログ

#### 4. 研究成果

##### 4-1. 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3)。しかし、いずれのアナログも細胞毒性は著しく低下した。特に、トリメチルセリンとジメチルアラニンと比較すると、約 1000 倍細胞毒性に差があることがわかる。構造としてはメトキシ基の有無であることから、トリメチルセリン基のメトキシ基が必須であり、強力な細胞毒性発現に重要な官能基であることが判明した。

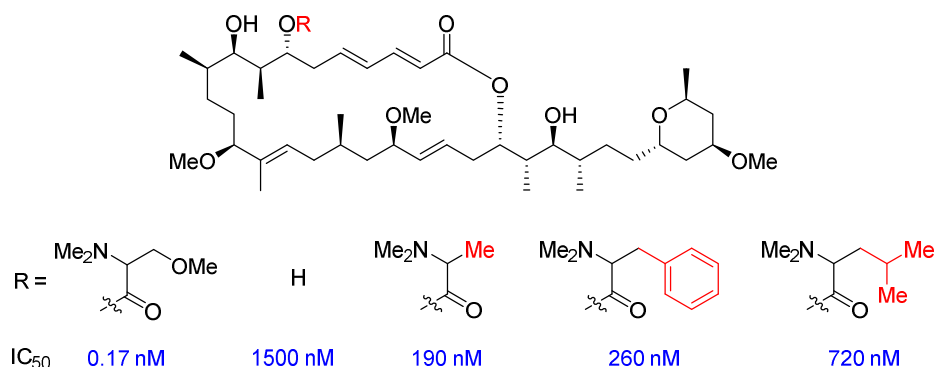


図3. アミノ酸部位の構造活性相関

また、アプリロニン A とハイブリッドでは作用機序は保持されたものの、約 10 倍細胞毒性が低下した。このことを評価するために、それぞれの化合物の側鎖部を設計・合成し、アクチン脱重合活性を評価した(図4)。その結果、アプリロニン A の側鎖部はアクチン脱重合活性を示したものの、スウィンホライド A の側鎖部はアクチン脱重合活性を示さなかった。以上の結果より、アプリロニン A よりもハイブリッドの細胞毒性が低下した要因は、側鎖部のアクチン脱重合活性が低下したことに起因すると判明した。

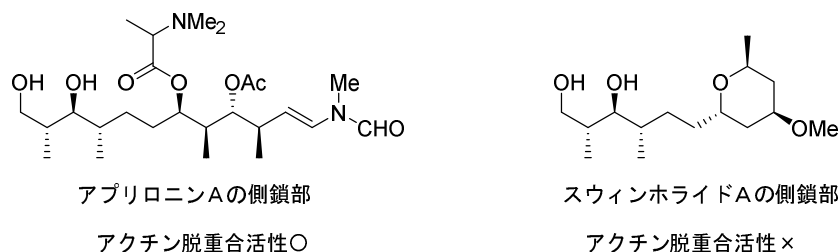


図4. 側鎖部のアクチン脱重合活性

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6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohyoshi Takayuki, Takano Atsuhiko, Kikuchi Imari, Ogura Tomotaka, Namiki Mayu, Miyazaki Yuto, Hirano Takahiro, Konishi Shota, Ebihara Yuta, Takeno Koichi, Hayakawa Ichiro, Kigoshi Hideo	4. 巻 20
2. 論文標題 Structure-activity relationship studies on an antitumor marine macrolide using aplyronine a?swinholid A hybrid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 2922 ~ 2938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2ob00118g	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, Tano Hikaru, Kigoshi Hideo	4. 巻 94
2. 論文標題 Synthetic Studies toward Aplysiasecosterol A: Concise Synthesis of the Tricyclic Core and Its Reactions for Introduction of the D Ring Fragment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 1179 ~ 1184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200401	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, Kigoshi Hideo	4. 巻 50
2. 論文標題 Recent Progress in Structure-Activity Relationship Studies on Antitumor Macrolide Aplyronine A by Using Hybridization of Actin-depolymerizing Natural Product	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 580 ~ 584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200866	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, Tano Hikaru, Kigoshi Hideo	4. 巻 94
2. 論文標題 Synthetic Studies toward Aplysiasecosterol A: Concise Synthesis of the Tricyclic Core and Its Reactions for Introduction of the D Ring Fragment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 1179 ~ 1184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200401	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, Ichimura Fumitaka, Higuma Tatsuya, Yoshida Masahito, Kigoshi Hideo	4. 巻 93
2. 論文標題 Total Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies of Phelligidins C and D, and Phellifuropyranone A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 1540 ~ 1551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200212	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, Kigoshi Hideo	4. 巻 50
2. 論文標題 Recent Progress in Structure-Activity Relationship Studies on Antitumor Macrolide Aplyronine A by Using Hybridization of Actin-depolymerizing Natural Product	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 580 ~ 584
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200866	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7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 趙 毅文、大好 孝幸、木越 英夫
2. 発表標題 海洋軟体動物アメフラシ由来新規プロモジテルペン類の単離と合成
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤 秀成、野口 智成、大好 孝幸、木越 英夫
2. 発表標題 エポキシド含有マクロライド、サイトファイシンBのマクロラクトン部の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三次 啓介、高林 徹、大好 孝幸、木越 英夫
2. 発表標題 三環性[4.3.1.0]デカン骨格を持つネモロソノールとヒペルラロンAの合成研究
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 細野 周、飯泉 英忠、田野 輝、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・アプリシアセコステロール類の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会(2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三次 啓介、高林 徹、大好 孝幸、木越 英夫
2. 発表標題 三環性[4.3.1.0]デカン骨格を持つネモロソノール類の合成研究
3. 学会等名 第63回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 細野 周、田野 輝、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・アプリシアセコステロールB, Cの合成研究
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会(2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小西翔太、菊地いまり、大好孝幸、木越英夫
2. 発表標題 アブリロニンAを基にした抗腫瘍性ハイブリッド化合物の合成研究
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会(2021)
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------