

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24年 6月 8日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659216

研究課題名（和文）

金属錯体液晶の磁場応答性を利用した核磁気共鳴画像診断における多機能医薬品の開発

研究課題名（英文） The development of multifunctional drug for magnetic resonance imaging diagnosis that uses metallic complex liquid crystal compound

研究代表者

柏倉 幾郎 (KASHIWAKURA IKUO)

弘前大学・大学院保健学研究所・教授

研究者番号：00177370

研究成果の概要（和文）：

本研究は、液晶化合物の生物学的作用とその磁場・電場配向性に着目し、新規金属錯体液晶を創製し、磁気共鳴画像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)診断における新規造影剤の開発を目的とした。2年間の研究の結果、以下の点を明らかにした。

- 2種類の両親媒性液晶化合物は、ヒト単球系白血病細胞U937のS期停止を介した増殖抑制を示した。この時細胞内タンパクのうちMCM2, cyclin A, cyclin B, CDK2, phospho-CDK1 and Cdc25C発現の低下が観察された。
- Phenylpyrimidine及びcyanobiphenyl誘導体は、非小細胞肺癌A549細胞をA549細胞のG1期停止させて細胞増殖抑制作用を示した。このうちphenylpyrimidine誘導体の1つは、正常繊維芽細胞への毒性は示さなかった。
- 16種類の液晶関連化合物の薬理作用を慢性骨髄性白血病細胞K562で検討した結果、2つの化合物に μM レベルでの強い細胞増殖抑制作用が認められた。このうちの1つは、p38及びc-Junを活性化し、K562をアポトーシスへと誘導する。
- 4-cyano-4'-(6-hydroxyhexyloxy)biphenyl (I-CN)と4-methoxy-4'-(6-hydroxyhexyloxy)biphenyl (I-OMe)の等量混合物は非小細胞肺癌A549細胞の増殖を強く抑制した。さらにこの混合物はそれぞれの単独に比べて高い液晶性を示した。
- 現在将来の臨床応用を目指して、引き続き磁場及び電場配向特性を有する新たな金属錯体液晶化合物の開発に取り組んでいる。

研究成果の概要（英文）：

Focusing on the biological activities of liquid crystal compound (LC) and their magnetic and electric field orientation, the purpose of this study was to develop the novel metallic complex and apply as the diagnostic drug in magnetic resonance imaging. We revealed the following points.

- Two amphiphilic LCs were considered to delay S-phase progression in cell cycle of human leukemic monocyte lymphoma U937 cells, through inhibition of MCM2, cyclin A, cyclin B, CDK2, phospho-CDK1 (Tyr15) and Cdc25 expression.
- The phenylpyrimidine derivatives and cyanobiphenyl derivatives showed cytostatic effects, causing the suppression of cell growth through G1 phase arrest in A549 human lung cancer cells. One of the phenylpyrimidine derivatives inhibited A549 growth without any toxicity to normal fibroblasts.
- The biological activity of 16 liquid crystal-related compounds to a chronic myelogenous leukemia cell line, K562, was evaluated. As a result, two compounds, 2-(4-butoxyphenyl)-5-(4-hydroxyphenyl) pyrimidine and 2-{4-(4-hydroxyphenyl) phenyl}-5-hydroxypyrimidine showed marked growth suppression of K562 cells at μM range. In addition, only the former compound induced the activation of p38 mitogen-activated protein kinase and c-Jun N-terminal kinase, and apoptosis of K562 cells.
- An equimolar mixture of 4-cyano-4'-(6-hydroxyhexyloxy) biphenyl (I-CN) and 4-methoxy-4'-(6-hydroxyhexyloxy) biphenyl (I-OMe) exhibits larger suppressive effects on the

growth of A549 human lung cancer cell line and shows higher ability to form thermotropic and lyotropic liquid-crystalline phases than I-CN or I-OMe.

5. We are currently examining the development of novel metallic complex LCs which can be regulated by external stimulation by an electrical field or magnetic field for future pharmacological application.

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	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	450,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：金属錯体液晶・造影剤・MRI・抗腫瘍効果

1. 研究開始当初の背景

磁気共鳴画像(Magnetic Resonance Imaging) 診断法は、強力な磁場内において、特定周波数の電磁波を照射すると水素原子が共鳴し、発生する一定の周波数の電磁波 (MR 信号) を画像化する検査法であり、核医学検査よりも分解能が高く、また軟部組織の撮影に強みを発揮 (特に中枢神経系や整形外科領域など) するのが特徴である。このとき、検査目的によっては血管や病巣部位を鮮明化する目的で、常磁性体であるガドリニウムや鉄を用いた造影剤が用いられる。然しながら、現在の造影剤は① 臓器特異性が低い、② 血管から細胞外液に流出してしまうため組織集積性が低い、③ 血流の乏しい組織での有用性は低い、等の問題を抱えている。一方で、放射線被ばくを伴わない検査であるため、国際的にも問題となっている診断時放射線被ばくによる発がんリスクを回避出来る為、MRI の利用は益々進むものと考えられる。さらに現在では、MRI の磁場強度の高度化が国際的な流れとなっており、画像の鮮明化を目的とした装置の開発は活発である。一方で、MRI を「診断方法」とはみなしても、「治療方法」へと応用発展するという発想は乏しかった。研究代表者らはこれまで、液晶化合物に抗腫瘍活性を見出し[1-3]、その作用機構並びに腫瘍特異性の高い化合物探索を進めている。研究代表者のグループのこうした取り組みから、本研究課題を着想するに至った。

- [1] A. Yoshizawa, R. Terasawa, K. Takahashi and I. Kashiwakura *et al. Chem Lett*, 38, 310-311

(2009).

- [2] A. Yoshizawa, K. Takahashi, M. Hazawa, and I. Kashiwakura *et al. Chem Lett*, 38(6):530-531(2009).
 [3] K. Takahashi, A. Yoshizawa and I. Kashiwakura *et al. Invest New Drugs*, 29 (4): 659-665 (2011).

2. 研究の目的

研究代表者のグループは、表示媒体に利用されている液晶材料のうち両親媒性液晶化合物の細胞膜への親和性と集積性に着目し、これら化合物にヒト腫瘍細胞抑制活性を見出し[1-3]、現在その作用機構並びに腫瘍特異性の高い化合物探索を行っている。本研究では、これら液晶化合物の生物学的作用に加え、その磁場・電場配向性に着目し、規則的な金属の集合体からなる新規金属錯体液晶を創製し、磁気共鳴画像(Magnetic Resonance Imaging, MRI)診断における新規造影剤の開発を目的とする。更に、MRI 診断において抗腫瘍作用と配向特性を利用した多機能医薬品への応用発展性の可能性を探索する。MRI 法は、分解能の高さや、軟部組織の撮影に強みを発揮する特性に加え、昨今問題となってきている診断時における放射線被ばくがない点から、さらなる発展が期待され、本研究遂行の意義も高い。

3. 研究の方法

本研究の目的を達成するためには、① 磁場応答性・集積性が高く、既存の造影剤より高い描出能を示す金属錯体液晶の開発、②

がん組織や細胞に対するドラッグデリバリーシステムの検討による、組織や細胞特異性・集積性の向上、③ 磁場配向による抗腫瘍活性の向上、さらには④ 低毒性、低副作用、の特性を併せ持つことが望まれる。特に化合物が血流に取り込まれ全身を循環する可能性が高い為、造血幹細胞や腎機能に影響する可能性が高い。また抗腫瘍効果については、組織や細胞への集積時に、磁場強度や密度、曝露時間の制御により金属錯体液晶の集積度や配向性を変化させる事で抗腫瘍効果を増強しうる事が望ましい。本研究では、これらの点を克服する目的で、平成22年度と23年度の2カ年をかけて研究を進めた。

4. 研究成果

- (1) ヒト肺がん細胞 A549 の増殖を両親媒性液晶化合物が抑制効果を示し、その作用は液晶性と相関性が認められた。さらに正常細胞 WI-38 の増殖には影響しなかったことから、腫瘍細胞特異性が示唆された。
- (2) ヒト慢性骨髄性白血病細胞 K562 の増殖に対しては、p38 mitogen-activated protein kinase と c-Jun N-terminal kinase の活性化を通してアポトーシスを起こさせていることが明らかとなった。
- (3) 14 種類の液晶化合物、末端に水酸基を有する D-glucamine を持つ phenylpyrimidine 及び cyanobiphenyl 誘導体、の生物及び薬理作用について、ヒト単球系白血病細胞 U937 を用いて検討したところ、幾つかの化合物にアポトーシスではない S 期停止を介した増殖抑制を示した。この時細胞内タンパクのうち MCM2, cyclin A, cyclin B, CDK2, phospho-CDK1 and Cdc25C 発現の低下が観察された。また、活性化化合物は可動域を有する棒状構造が効果的である事が示された。
- (4) 新規に合成された液晶関連化合物の抗腫瘍活性を、非小細胞肺癌 A549 細胞を用いて検討した。数種類の化合物の増殖抑制作用を検討したところ、そのうちの1化合物 12 μM 添加 3 日後の生細胞数は非添加対照群の 10% 以下であった。この化合物の抑制作用は、活性化型 Casapase-3 を強く発現させる事からアポトーシスを誘導によることが示された。併せてこの化合物の放射線増感作用を検討したところ増感作用は認められなかったが、放射線と相加的に作用することが示唆された。

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4件)

- (1) J. Ishikawa, Y. Takahashi, M. Hazawa, A. Yoshizawa and I. Kashiwakura. Suppressive

effects of liquid crystal compounds on the growth of the U937 cells. *Cancer Cell Int*, 12(1):3 (2012). Feb 3 [Epub ahead of print]

- (2) Y. Takahashi, K. Takahashi, M. Hazawa, A. Nishizawa, A. Yoshizawa and I. Kashiwakura. Suppressive effects of liquid crystal compounds on the growth of the A549 human lung cancer cell line. *Invest New Drugs*, 29 (4): 659-665 (2011)
- (3) Y. Fukushi, M. Hazawa, K. Takahashi, A. Yoshizawa and I. Kashiwakura. Liquid crystal-related compound-induced cell growth suppression and apoptosis in the chronic myelogenous leukemia K562 cell line. *Invest New Drugs*, 2010 Apr 27. [Epub ahead of print]; 29(5): 827-832 (2011).
- (4) Y. Takahashi, M. Hazawa, K. Takahashi, M. Sagisaka, I. Kashiwakura and A. Yoshizawa. Supramolecular assembly composed of different mesogenic compounds possessing a ω -hydroxyalkyl unit exhibits suppressive effects on the A549 human lung cancer cell line. *Med Chem Comm*, 2: 55-59 (2011).

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.hs.hirosaki-u.ac.jp/~kashiwakura/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏倉 幾郎 (KASHIWAKURA IKUO)
弘前大学・大学院保健学研究科・教授
研究者番号：00177370

(2) 研究分担者

齋藤 陽子 (SAITO YOKO)
弘前大学・大学院保健学研究科・教授
研究者番号：80225739
門前 暁 (MONZEN SATORU)
弘前大学・大学院保健学研究科・助教
研究者番号：20514136

(3) 連携研究者

吉澤 篤 (YOSHIZAWA ATSUHI)
弘前大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：30322928

高橋 賢次 (TAKAHASHI KENJI)

鳥取大学・農学部獣医学科・准教授
研究者番号：00400143