

癌に普遍的に効果のある薬剤の開発を目指した MTH1 活性阻害作用および Rcn1/DSCR1 の分解阻害作用を示す生薬のスクリーニング

申請代表者 春木 満 日本大学工学部生命応用化学科 教授
所外共同研究者 岸 努 日本大学工学部生命応用化学科 准教授

■背景・目的

あらゆる癌に普遍的に効果のある薬剤の開発を目指し、癌に特異的な性質を標的とした生薬の探索を目的とする。(1) 癌細胞は酸化ストレスを多く受けるため、酸化されたヌクレオチドを分解する MTH1 の発現が上昇する。そこで、MTH1 の活性を阻害することにより癌細胞の増殖を抑制する生薬の探索を行う。(2) 癌細胞の増殖・転移は、癌細胞における血管新生を阻害することにより抑制することが可能である。ユビキチン化により量的制御を受けている Rcn1/DSCR1 は癌細胞における血管新生を阻害する。そこで、Rcn1/DSCR1 のユビキチン化を阻害する生薬の探索を行う。

■結果・考察

平成 28 年度は、MTH1 阻害剤のスクリーニングを試みた。スクリーニングは、His-tag を付加した human MTH1 を大腸菌において大量発現し、Ni カラムにより精製したものをを用い、酵素活性を直接検出することにより行った。活性測定は、dGTP を基質として MTH1 とピロホスファターゼの作用で生じたリン酸を、マラカイトグリーンの発色により定量した。化合物を加えない場合の活性を 100% として化合物による阻害活性を評価した。生薬由来化合物 (No.1 ~ No.80) を 100 μ M の濃度になるように加えた場合の結果を図 1 に示す。No.14、No.17、No.22、No.33、No.78 において 50% 程

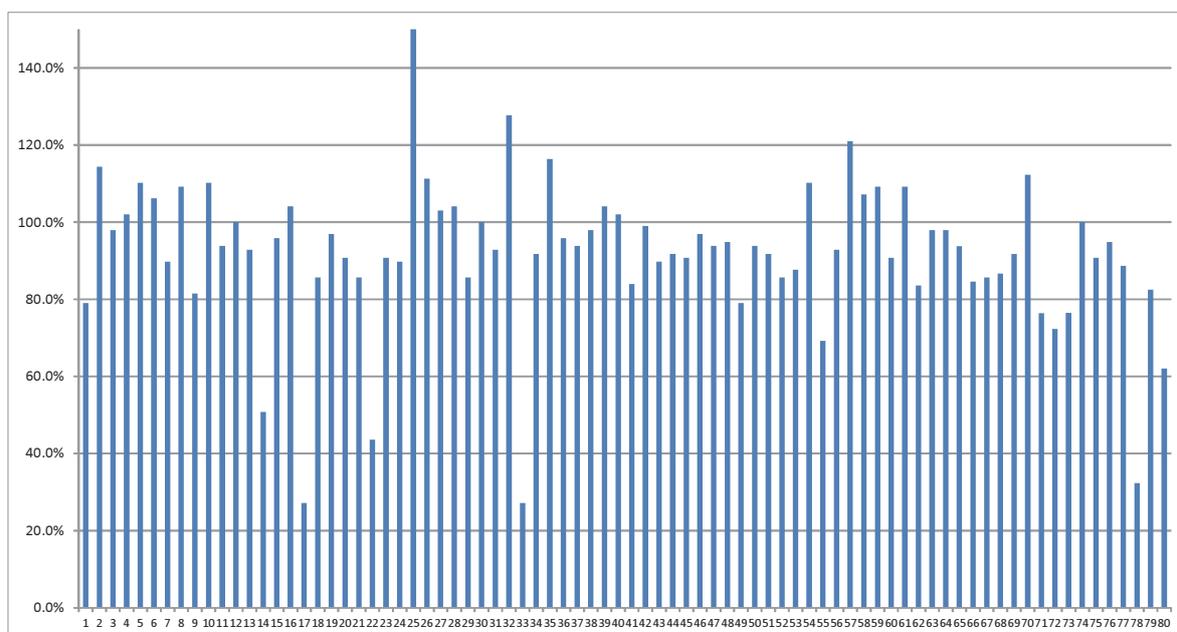


図 1 生薬由来化合物を用いた MTH1 阻害活性のスクリーニング結果 (No.1~No.80)

度以上の阻害が見られたので、再度阻害活性を確認した。その結果、No.17 は阻害を示さなかったが、

No.14 (バイカリン)、No.17 (ベルベリン)、No.22 (カピラリシン)、No.33 (硝酸デヒドロコリダリン)、No.78 (塩化パルマチン) は阻害がみられた。次に、生薬エキスを 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度になるように加えた場合の結果を図2に示す。No.8 (オウバク) において比較的高い阻害が見られたので、再度阻害

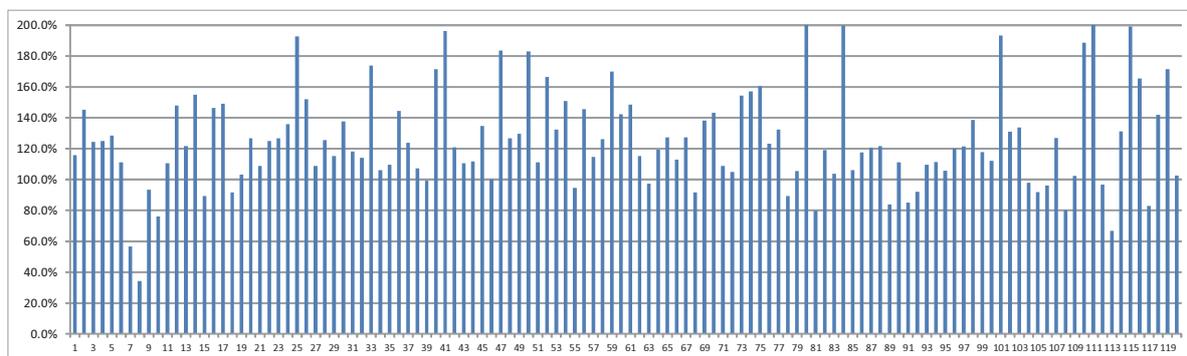


図2 生薬エキスをを用いたMTH1阻害活性のスクリーニング結果

活性を確認したところ、45%程度の阻害が見られた。ベルベリン、デヒドロコリダリン、パルマチンは構造式が類似しており(図3)、ともに阻害活性を有することは順当といえる。また、パルマチンを含むオウバクにも阻害活性がみられたことも合致する。バイカリンを含むオウゴン、カピラリシンを含むインチンコウ、デヒドロコリダリンを含むエンゴサク、ベルベリンを含むオウレンには阻害活性がみられなかったが、これはこれらの成分の含量が少ないからであると考えられる。

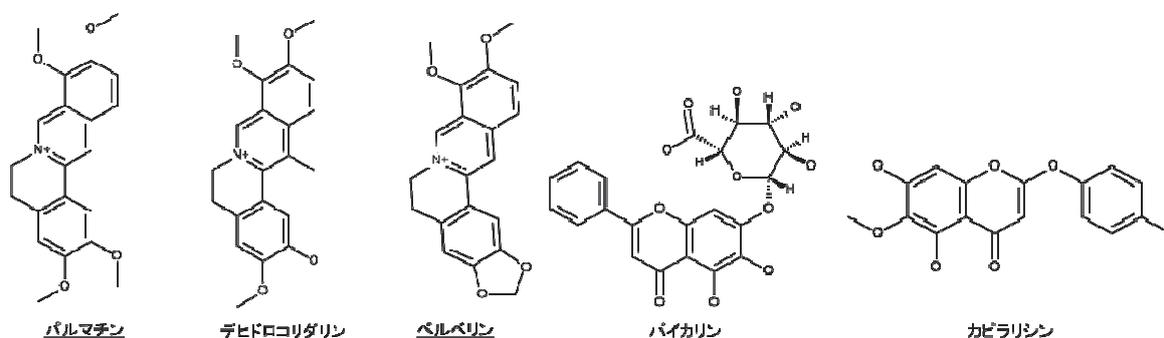


図3 阻害活性が見出された化合物の構造式

■結論

今回いくつかの生薬成分について、MTH1 活性阻害効果が見出されたので、今後癌細胞及び正常細胞への増殖抑制効果の解析を行いたいと考えている。見出された化合物は構造の類似点もみられるので、それをもとに阻害活性の高い化合物を得ることも可能と期待される。