

植物由来のアルカロイド、ニチジンによる ヒト肺腺がん細胞内への特異的蓄積と 細胞毒性を利用した薬剤開発

琉球大学 熱帯生物圏研究センター

遺伝資源応用学分野

教授 屋 宏典

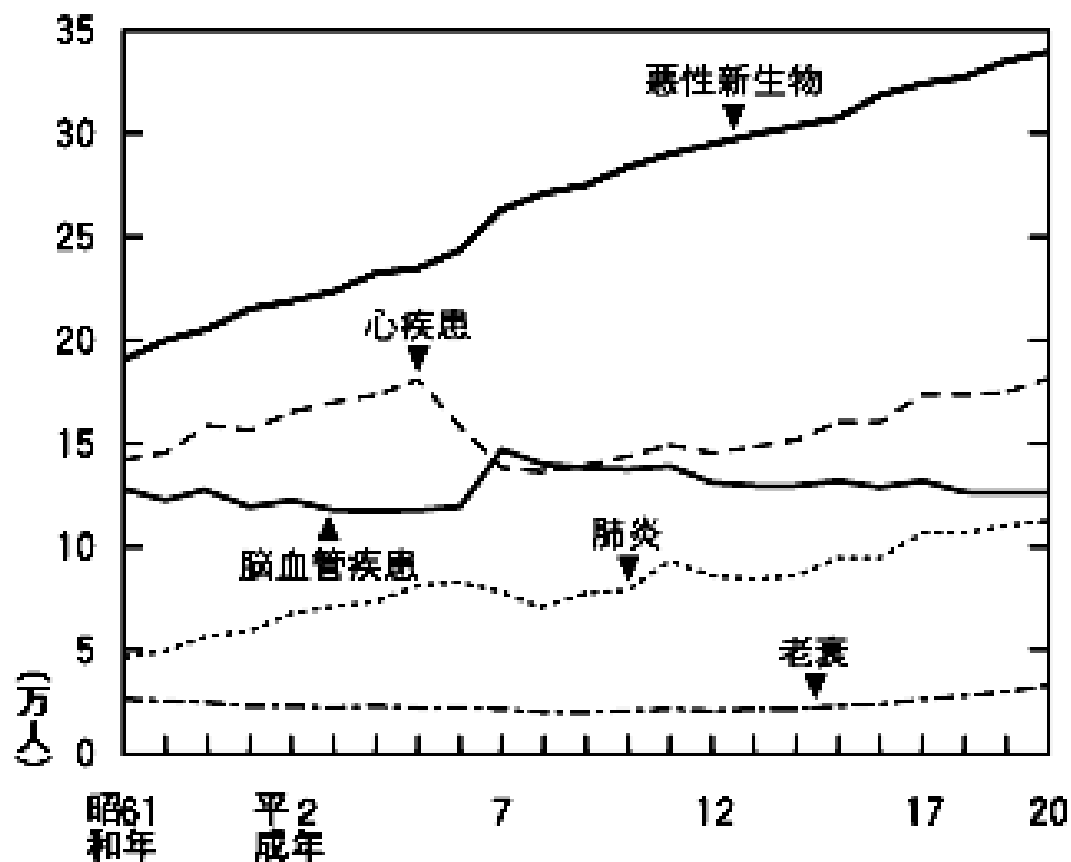
助教 岩崎 公典

研究背景

日本人の死因のうち悪性新生物の死亡者数は増加の一途をたどっている。これは、単純にがんの発症率が上昇しているだけではなく、その他の疾患による死亡者数が減少していることに起因しており、がん治療の難しさを示している。

このような背景から、有効ながん治療法の確立が強く望まれており、外科処置、理学療法、放射線療法、化学療法の分野で様々な研究が行われている。

48 主要死因別死亡者数



[21-7表参照]

<http://www.stat.go.jp/data/nihon/g4821.htm> より引用。

従来技術とその問題点

- がんは増殖が速いほど悪性と診断されるため、抗がん剤の多くは増殖抑制剤であることが多い。
 - ≫ 一部の正常組織は活発に増殖しており、これらの組織が副作用のターゲットとなりやすい。
- 近年注目されている分子標的治療薬は、がん細胞に特異的な分子を標的としており、副作用が現れにくく、高い効果を発揮する。
 - ≫ 分子標的治療薬の開発には、がん特異的な分子を明らかにする必要があるが、非常に困難である。
- ◎ がんの特異的な分子の解明よりも、特異的に攻撃する薬剤候補分子を探索することが急務では？

新技術の基となる研究成果・技術 ①

増殖性のがん細胞と、正常細胞を比較し、がん細胞のみを抑制する活性（腫瘍選択的細胞毒性）のスクリーニングを行った結果、サルカケミカン（*Toddalia asiatica Lam.*）より、Nitidine（NTD）を単離した。

サルカケミカンは薬草茶として利用されており、その処方（熱水抽出）に準じた場合でもNTDが抽出されることを確認している。

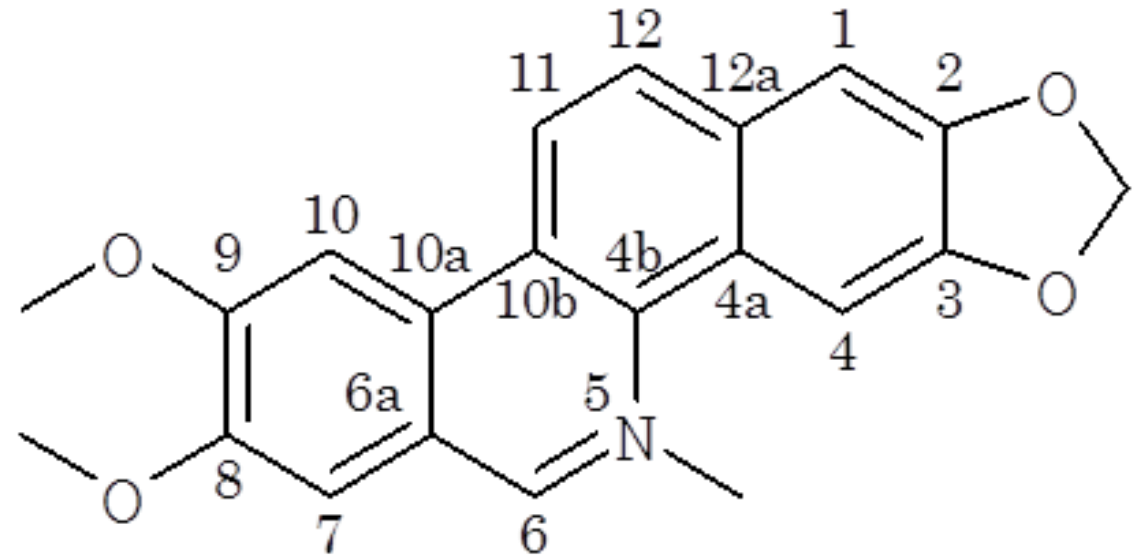


図1. NTDの化学構造

新技術の基となる研究成果・技術 ②

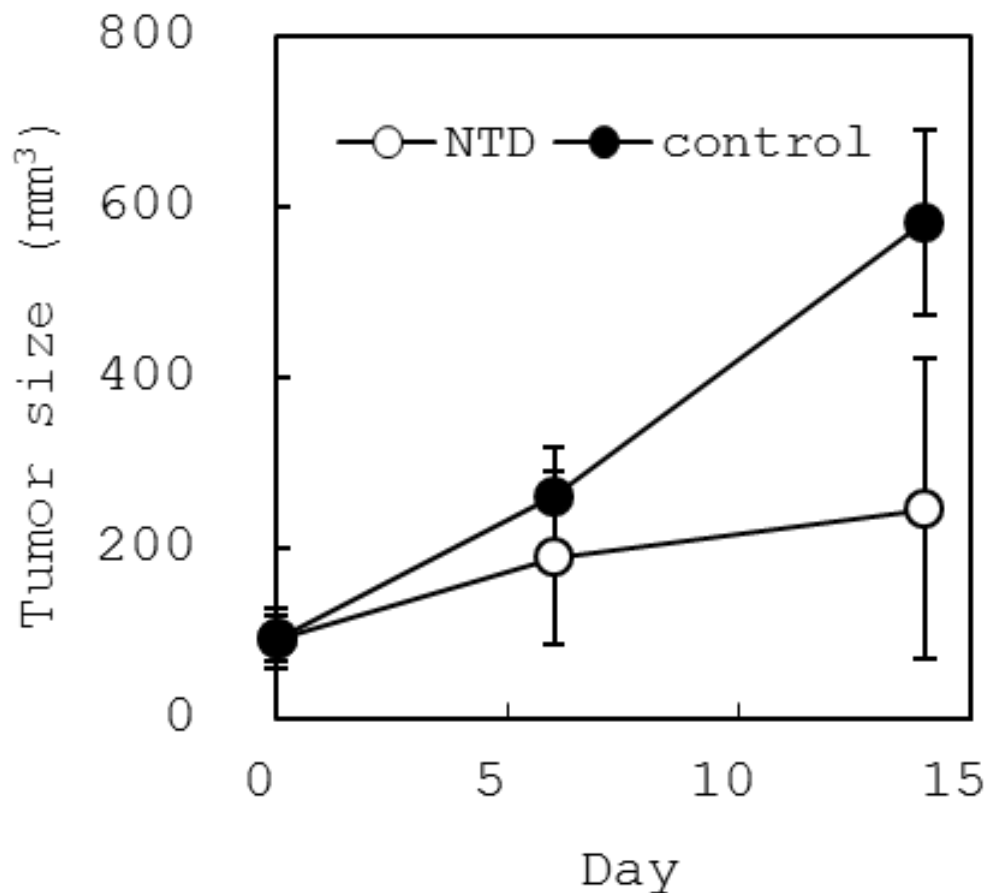
NTDはヒト肺腺がんに対して高い特異性を示し、正常細胞や、ヒト扁平上皮がんにはほとんど影響していないことが明らかになっている（表1）。

表1 NTDの各種培養細胞に対する細胞毒性

由来	細胞株	ED ₅₀ (μg/ml)
正常組織	WI-38 (肺繊維芽細胞)	55.11
	OUMS-36 (胎児繊維芽細胞)	41.13
	OUMS-36T-2F (不死化胎児繊維芽細胞)	56.15
腫瘍組織	A549 (肺腺ガン)	0.19
	VMRC-LCP (肺扁平上皮ガン)	38.52
	COLO-201 (大腸ガン)	3.21
	MIA-PaCa2 (膵臓ガン)	2.38
	A431 (皮膚ガン)	1.95
	KATOIII (胃ガン)	4.60
	SKBR-3 (乳ガン)	3.31

新技術の基となる研究成果・技術 ③

ヌードマウスにヒト肺腺がんを移植した後、NTD投与による抗腫瘍効果を評価した結果、腫瘍の成長を50%以上抑制することが明らかになった（図2）。



同実験において、体重減少や異常行動、肝障害などは認められていない。

図2 *in vivo*におけるNTD投与によるヒト肺腺がん抑制

新技術の基となる研究成果・技術 ④

NTDには自家蛍光があり、蛍光顕微鏡下で容易に観察できる。この特性を利用することで、NTDはターゲットとなるがん細胞内に過剰に蓄積することで、細胞死を誘導することを明らかにした（図3）。

NTD処理から15分程度で細胞内に蛍光が観察されることから、NTDは速やかに標的細胞内に浸透していることがわかる。また、この蓄積はNTDを除去した後4時間程度は安定である。

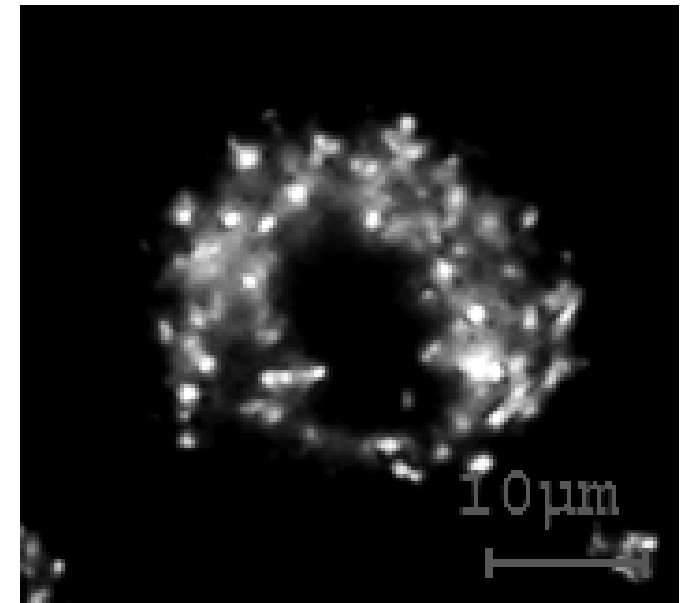


図3 NTD処理後の細胞の
蛍光顕微鏡観察像

新技術の基となる研究成果・技術 ⑤

NTDの蓄積は細胞質ではなく、ミトコンドリアに局在していることが明らかになっている（図4）。

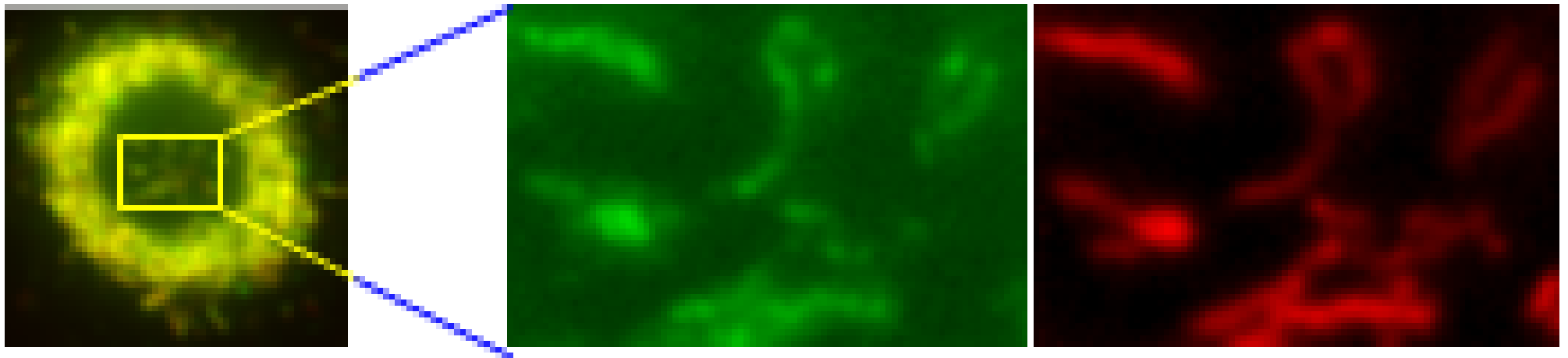


図4 NTD処理後の細胞の蛍光顕微鏡観察像

ミトコンドリアに局在するメカニズムは明らかになっていないが、細胞のコレステロール輸送体（ABCA1）が、NTDの排出に関与していることを既に明らかにしている。

新技術の基となる研究成果・技術 ⑥

細胞内への蓄積量はコレステロール輸送体のABCA1によってコントロールされている（表2）。

表2 細胞のABCA1発現量とNTD感受性

Cell line	ABCA1 Exp.	D50 of NTD (uM)
A549	1.0 ± 0.3	0.9
WI-38	13.9 ± 0.0	>30.0
WI-38 VA13 sub 2 RA	1.3 ± 0.9	1.7
OUMS-36T-2F	4.3 ± 1.7	>20.0
VMRC-LCP	7.4 ± 1.6	>30.0
ACC-MESO-4	15.0 ± 5.4	>30.0
PC-14	1.0 ± 0.2	15.4
RERF-LC-KJ	0.3 ± 0.1	5.1

関連する研究成果・技術

細胞内に蓄積したNTDを蛍光顕微鏡で観察中に、励起光（360-400nm）の照射により、速やかに細胞死が誘導されるという現象を確認している。これは、光学的処置を併用することで、腫瘍抑制効果を増大させることができる可能性を示唆している。

NTDの類縁体として、Dihydranitidine (DHN)、Demethylnitidine (DMN) を単離している。DHNはNTDとほぼ同じ特徴を有している。DMNはNTDのメチル基が外れた構造をしているが、蛍光も細胞毒性も全く認められない。これらの構造特性の詳細を明らかにすることで、NTDの蓄積、毒性、蛍光に関与する官能基が明らかになると期待できる。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来の抗がん剤と異なり、NTDは標的がん細胞に対する特異性が極めて高い。
- 薬草茶の主成分であることから、ヒトに対する適用歴もあり、安全性も高いことが示されている。
- NTDは蛍光分子であり、速やかに標的がん細胞内に蓄積するという特徴から、検査薬としての応用も期待できる。
- 蛍光性細胞毒性分子が標的がん細胞に蓄積するという特徴的な性質を利用することで、光学的処置を併用した、化学療法×理学療法といった、新しい治療プログラムの開発が期待できる。

想定される用途 ①

- 抗がん剤：本技術は、ヒト肺腺がんの高い特異性を示す細胞毒性を利用するもので、外科処置の困難な肺腺がん治療薬としての応用が期待できる。
- サプリメント：薬草茶などに高濃度に含まれており、安全性が確立されている。そのため、がん治療薬との併用や、補完代替医療薬としての応用も期待できる。
- 蛍光指示薬：細胞内に蓄積し蛍光を示すため、肺腺がん細胞の検出薬としての応用が期待できる。
- 蛍光指示薬：細胞内の蓄積はミトコンドリアに局在しており、ミトコンドリア指示薬としての利用も考えられる。

想定される用途 ②

- NTDが蓄積した細胞は光感受性が高いという性質を利用することで、光学的処置と併用可能な薬剤の開発につながる可能性がある。
- NTDはコレステロール輸送体によって細胞外に排出されていることが示唆されている。この特性を利用すれば、コレステロールをコントロールする薬剤と併用することで、特異性や効果をさらに向上させたり、逆に副作用を軽減させるような投薬プログラムの開発が期待できる。

想定される業界

- 利用者・対象
医薬品メーカー、サプリメントなどの食品産業、研究用試薬メーカー、医療機器メーカーの光学機器部門など
- 市場規模
抗腫瘍剤の市場規模は6,000億円以上といわれている。

実用化に向けた課題

- NTDはサルカケミカンに比較的多量に含まれているが、類縁化合物も多く存在している。産業への応用においては、簡便な精製法を確立することが必要である。
- NTDの有機合成は困難であると考えられるため、大量かつ容易に得られる分子からの有機合成法を確立することが望ましいと考えられる。
- 実験動物において薬効が認められているが、血中クリアランスや体内での代謝経路など、不明な点も残っている。産業化に向けて、これらの薬物動態を明らかにすることも重要である。

企業への期待

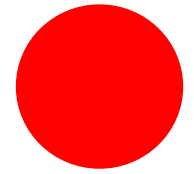
●ラボレベルの実験結果は実用化の指標の第一歩に過ぎない。ヒト試験や競合する薬剤との詳細な比較実験、精製プロセス、原材料の確保、トータルコストなど様々な因子が関係すると考えられる。

今後は、企業との

- ・実用化に向けたより詳細な試験。
- ・プラントスケールでの精製法の検討。
- ・原材料栽培技術の最適化
- ・より適した原材料の探索。
- ・NTDの光学的特性の解明。

などの共同研究を期待している。

本技術に関する知的財産権



- 発明の名称 : ニチジンを成分とする抗癌剤、
および該抗癌剤の感受性増強剤
- 出願番号 : 特願2007-069181
- 公開番号 : 特開2008-230977
- 登録番号 :
- 出願人 : 琉球大学、株式会社ハプロファーマ
- 発明者 : 屋 宏典、岩崎 公典

お問い合わせ先

国立大学法人琉球大学
産学官連携推進機構

教授 近藤義和

TEL:098-895-8598 FAX : 098-895-8957

E-mail : kondoyos@lab.u-ryukyu.ac.jp

准教授 宮里大八

TEL : 098-895-8599 FAX : 098-895-8957

E-mail : daiya@lab.u-ryukyu.ac.jp