

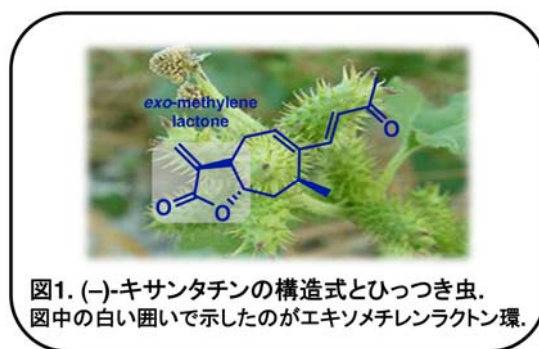
# ひつつき虫成分、(-)-キサントチンで乳がんを退治する： がん抑制遺伝子 *GADD45* 発現上昇を介した機序

第一薬科大学 薬学科 5 年（生命薬学講座・分子生物学分野）

岡島 隼輔・原田 麻里・三好 弘子

私たちは、卒業研究テーマ「蒼耳子成分、(-)-キサントチンによるヒト乳がん細胞死誘発機構の解析」で日々研究をしています。キク科植物の「オナモミ」の生薬名を「蒼耳子（そうじし）」といい、子供のころ、“ひつつき虫”と呼んで遊んでいた記憶があります。図 1 に示すように(-)-キサントチンは、その構造中

に活性部位としてエキソメチレンラクトン環をもっており、制がん作用、抗マラリア作用、そして抗炎症作用などの多彩な生理作用をもつことが報告されています。このように(-)-キサントチンは大変興味深い化合物ですが、オナモミ中には“極めて微量”しか含まれておらず、



実験的に示された(-)-キサントチンの生理作用は、そのオナモミからの抽出液を用いて行ったものばかりでした。私たちは、(-)-キサントチンの作用(点)をより明確に検証するためには、化学合成した(-)-キサントチンの純品が必要だと考えました。そこで、(-)-キサントチンの化学合成を行っている研究室・論文を調べました。その結果、九州大学先導物質化学研究所の新藤充教授の研究グループが(-)-キサントチンの化学合成に成功されていることがわかりました(Matsuo et al., *Tetrahedron*, 66:8407, 2010)。早速、十分量の(-)-キサントチンをご供与頂き、ヒト乳がん MDA-MB-231 細胞をモデルに、(-)-キサントチンによる制がん機序の解析をはじめました。まず、(-)-キサントチンを細胞に処理し、細胞増殖抑制における  $IC_{50}$  値を算出しました。処理後 48 時間での  $IC_{50}$  は  $5.28 \mu\text{M}$  と求められました。この値は、これまでに報告されているほかのエキソメチレンラクトン環含有化合物の  $IC_{50}$  値と比較して遜色ないか、あるいは小さいものであり、(-)-キサントチンが強力ながん細胞増殖抑制作用を示すことがわかりました。この時、(-)-キサントチンのエキソメチレンラクトン環のエキソメチレン部分が還元された(-)-ジヒドロキサントチンでは  $IC_{50}$  値が  $>25 \mu\text{M}$  であり、有意な増殖抑制

や細胞死は確認されませんでした。次に、ネクローシスの指標となる i) LDL 逸脱解析、ii) DNA ラダーリング解析、iii) 内因性のカスパーゼ-3 が欠損している MCF-7 乳がん細胞を用いた解析、そして iv) 細胞形態観察(membrane blebbing の有無 ; 図 2 参照)などを行った結果、(-)-キサントチンによる MDA-MB-231 細胞死はカスパーゼ非依存的なアポトーシスにより進行することが明らかになりました。次に DNA マイクロアレイ解析を行いました。ここまでに得られた実験結果・条件を参考に、(-)-キサントチンを MDA-MB-231 細胞に処理後、total RNA を抽出したのち、DNA マイクロアレイ解析用のサンプルとしました。解析は、受託業者に依頼しました。ヒトには約 23,000 の遺伝子が存在し、多くの遺伝子が増加あるいは低下するものと予想していましたが、驚いたことに、発現が低下した遺伝子はほとんどなく、増加した遺伝が多く見られました。この中で、特に (-)-キサントチン処理特異的に発現が増加している遺伝子があり、*GADD45 $\gamma$* と呼ばれるものでした。調べるとこの遺伝子は、ある種の発がん剤や UV 照射など、細胞が外界から受けたストレス刺激に呼応してその発現が増加するというものでした。*GADD45 $\gamma$* が活性化されると、下流のストレス応答性の MAP キナーゼ群、特に p38 および JNK が作動することが報告されていました。そこで、これらの阻害剤を(-)-キサントチン添加の 2 時間前に処理し、そののち(-)-キサントチンを処理しその影響を観察したところ、(-)-キサントチンによる作用がコントロールレベルまでに回復しました。さらに、(-)-キサントチンの作用は、ラジカルスカベンジャーとして知られる *N*-アセチル-L-システインの前処理により抑制されました。したがって、(-)-キサントチンによる MDA-MB-231 細胞増殖の抑制、ならびにこれに引き続き起こる細胞死には、発生した活性酸素種が引き金として関与していることが考えられました。最近、*GADD45 $\gamma$* がヒト乳がんにおけるがん抑制遺伝子として注目されています。*GADD45* には $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の 3 つの種類が知られており、これまでに *GADD45 $\gamma$* を選択的に誘導する化合物は知られていませんでした。私たちは、将来、(-)-キサントチンが、がん抑制遺伝子 *GADD45 $\gamma$* を作用点とする新規乳がん治療薬として役立つことを夢見ています。なお、本研究は九州大学先導物質化学研究所の新藤充教授との共同研究であり、私たちの研究内容が最近、*Chem Res Toxicol* 誌に受理されました (Takeda *et al.*, *in press*)。

