

# テーラード抗ガン剤をめざして

杉山 弘

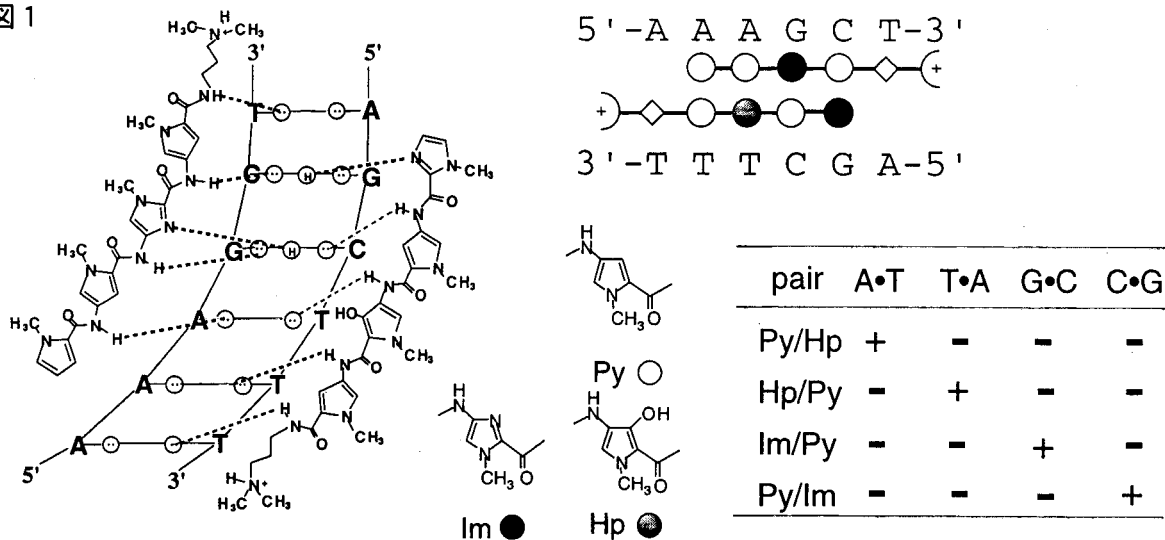
東京医科歯科大学 学生体材料工学研究所 教授

## 1) ピロール-イミダゾールポリアミドによる塩基配列認識

ヒトゲノムプロジェクトにより我々の「生命の設計図」である全遺伝子の塩基配列がほぼ解明された。この設計図に傷があったり、後天的に傷がはいると、病気や老化を引き起こすことが明らかになってきている。これらの結果、ガンを含む多くの疾病は DNA レベルで理解されるようになり、診断、予防などを中心とした医学全体が、革命的に変化しつつある。しかし現在、用いられている抗ガン剤は、スクリーニングによって選択された天然物や合成化合物であり、ガンの分子生物学的知見に基づいて設計されたものはほとんどない。これは細胞内の特定遺伝子の発現を細胞外からコントロールする一般的な方法論がまだ確立していないことによると考えられる。もしこれらが可能になると、究極の遺伝子レベルでの治療法になると考えられる。

カリフォルニア工科大学の Dervan らは、逆平行に配向したピロール-イミダゾール(Py-Im)ポリアミド類によって2本鎖 DNA の塩基配列が認識できることを発見した<sup>1)</sup>。即ち、G・C 塩基対を認識するためには Im/Py ペア、A・T 塩基対には Py/Hp ペアを用いるというポリアミドによる認識ルールである(図1)<sup>2)</sup>。この結果、逆平行に配向したポリアミドの Py、Im、Hp を組み合わせることにより DNA の塩基配列を正確に認識し結合する分子の設計が、原理的に可能となった。

図 1

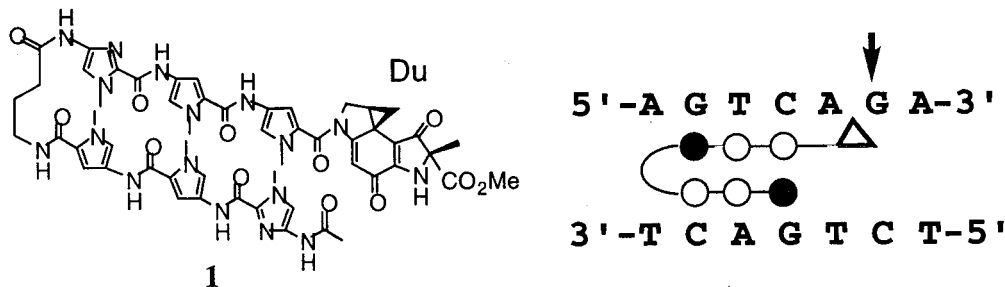


## 2) 任意の DNA シーケンスをアルキル化するポリアミド

抗ガン性抗生物質デュオカルマイシン A は A・T 塩基対に富む配列の 3' 末端の A 塩基で共有結合 (アルキル化) をつくって不可逆的に結合する。我々はこの反応系中にディスタマイシン A を存在させると、デュオカルマイシン A の配列特異性が劇的にかわり、G・C 塩基対に富む配列の G 塩基で反応がおこること

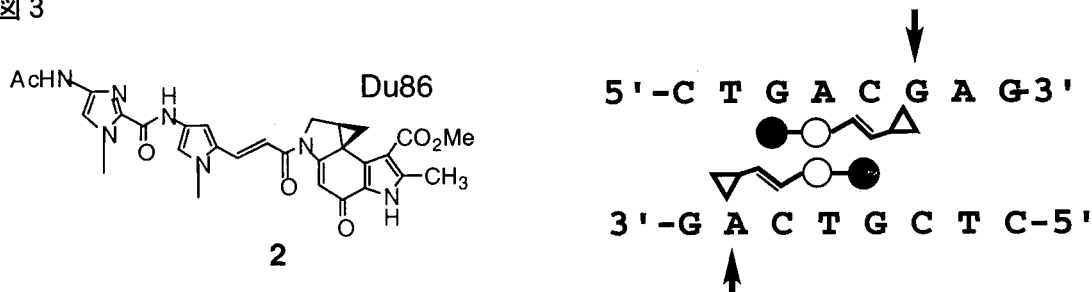
を見出ししていた<sup>3)</sup>。そこで Py-Im ポリアミドとデュオカルマイシン A のセグメント A (Du) と共有結合でつないだヘアピンポリアミド (1) を合成し、DNA アルキル化能を調べた。その結果、1 は図 2 に示すような認識様式で予測した 7 塩基配列を認識し、G または A をアルキル化することが示され、Py-Im ポリアミドによる配列特異的なアルキル化の最初の例となった<sup>4)</sup>。しかし反応は非常にゆっくりと進行し反応の効率 (アルキル化に実際に用いられた 1 の割合) も 8 % 程度であり、満足のゆくものではなかった。

図 2



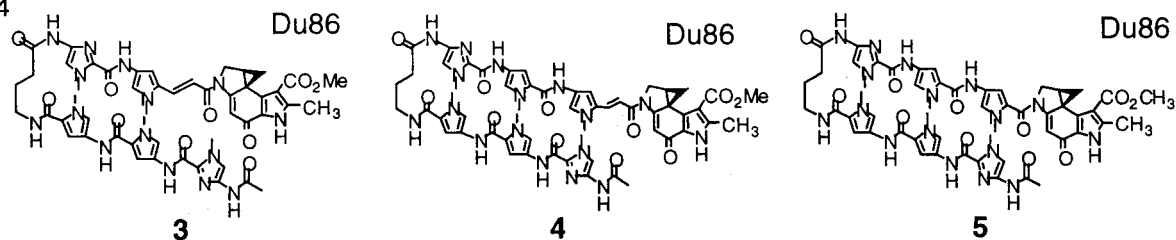
そこで分子構造の改良をめざして 1 と DNA との複合体について MD シミュレーションを行った。その結果、ビニルリンカーをセグメント A とポリアミドとの間に挿入すると、反応部位とグアニンとの距離が近づき、高い反応性が期待されることが示された。そこでビニルリンカー (L) を含む ImPyLDu86 (2) を合成した。アルキル化部分は化学安定性に優れたデュオカルマイシン B<sub>2</sub> から化学的に誘導される DU-86 のセグメント A (Du86) を用いた。興味深いことに 2 によるアルキル化は図 3 に示すように PyG(A/T)CPu という 5 塩基離れた両方の鎖で起こった。しかも 25 nM という低濃度においても反応の効率は 70% に達し、リンカー (L) の導入が反応性と効率を劇的に向上させることが明らかになった<sup>5)</sup>。

図 3



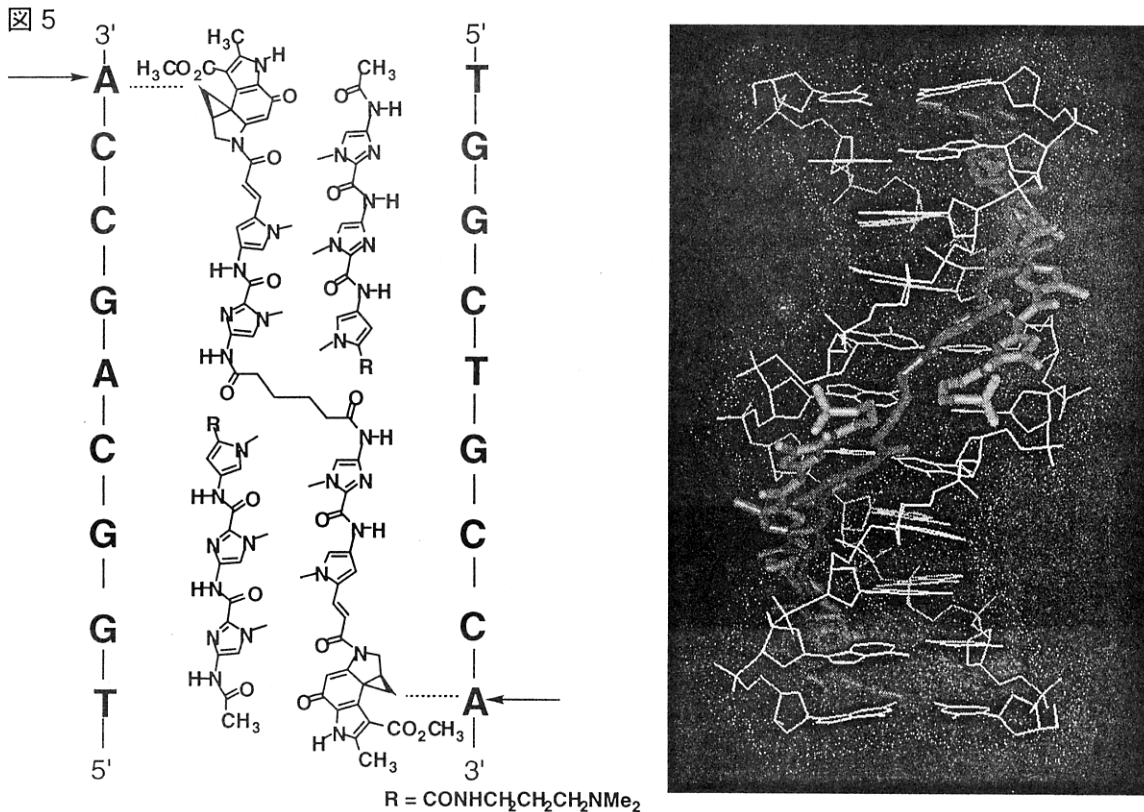
そこで図 4 に示すように、リンカー (L) を導入したヘアピンポリアミド (3、4) を合成したところ、効率よくターゲット配列をアルキル化する事が示された。興味深いことにリンカー (L) をもたない 5 では全く反応性を示さなかった。化合物 1 と 5 との違いは、セグメント A 部分の構造のみであるが、反応部位の位置が非常に重要であることが示された。

図 4



## 2) インターストランドクロスリンク剤の合成

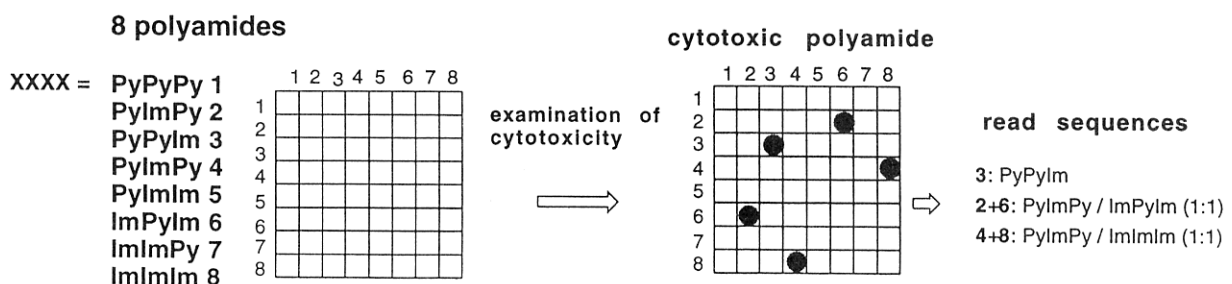
DNA 2本鎖を架橋するインターストランドクロスリンク剤は、強い複製阻害や転写阻害をもたらすことから抗ガン剤として有望であるが、重篤な副作用も問題となっている。インターストランドクロスリンク剤に配列特異性をもたせることで、ガン細胞に対する選択毒性の向上が期待される。そこで ImPyLDu86 (2) をアルキル鎖で結合させた2量体分子を合成した。この分子はパートナー分子が存在する時のみ2本鎖を効率よくインターストランドクロスリンクさせ、パートナー分子の配列によってクロスリンクする配列を任意に変えることができることが明らかになった (図5) 6)。



## 3) アルキル化ポリアミドによる遺伝子の特定と発現制御

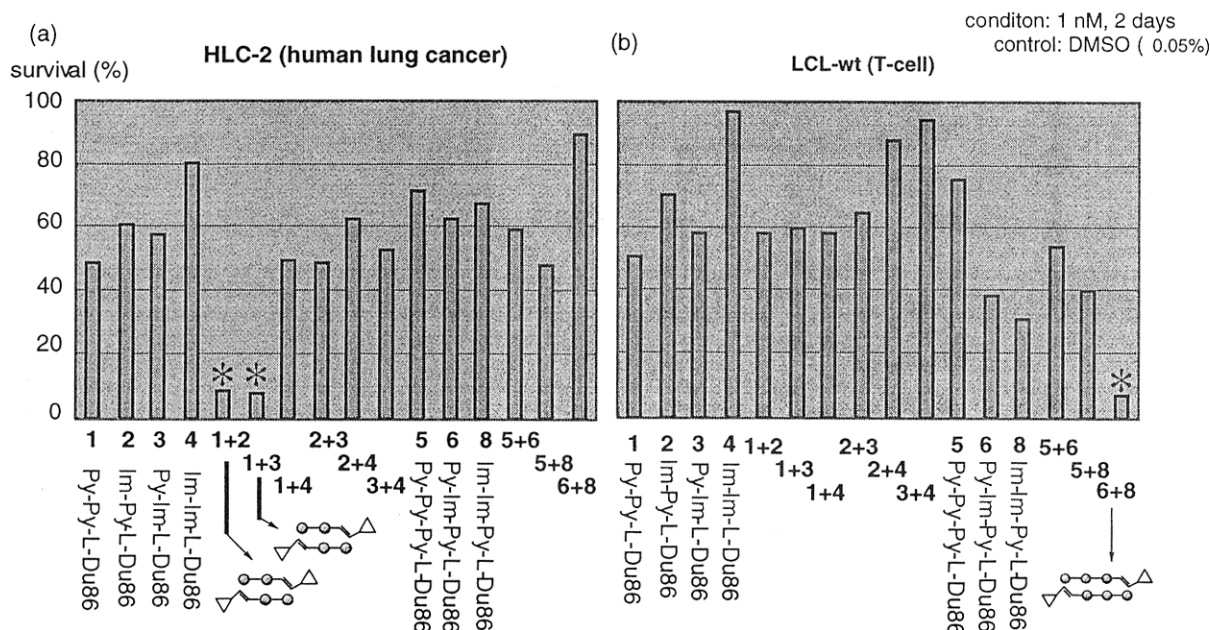
また図6に示すように、コンビナトリアル的な発想に基づいて、可能な組み合わせの塩基配列を全て認識できるアルキル化 Py-Im ポリアミドの化合物プールを一挙に合成し、その中から目的の遺伝子発現を選択的に抑制するポリアミドを選び出すことによって、ガンの原因となっている遺伝子を同定する方法も原理的に可能である。ポストゲノム時代において必要とされる遺伝子機能の同定やパスウェイ解析においても、ノックアウトマウスを用いた方法に変わる簡便な方法として利用できる可能性がある。

図6 アルキル化ポリアミド混合物による抗細胞活性試験と標的のスクリーニングの概念図



合成した化合物について、ガン細胞に対しての細胞毒性試験を行っているが、ビニルリンカーをもつ化合物は強い活性を示した<sup>7-10)</sup>。興味深いことに T-cell である LCL-wt に対して 2 種のトリアミド体の混合物 6+8 (1:1) を用いた場合に、ヒト肺ガン細胞 HLC-2 に対しては混合物 1+2 (1:1) あるいは 1+3 (1:1) を用いた場合に、細胞毒性が飛躍的に高くなることが明らかになった。この結果、細胞毒性を発揮する際に、化合物がヘテロダイマーを形成し、DNA をアルキル化している可能性があり、DNA を標的とする抗ガン剤開発に向けて興味深い結果といえる (図 7)。DNA アルキル化剤は 1970 年代の第一世代の抗ガン剤と言われ、開発は頭打ちになっている。DNA アルキル化剤に DNA の塩基配列特異性を付与することによって、副作用のないテーラーメイドの抗ガン剤を開発する糸口ができればと考えている。

図 7 アルキル化ポリアミドの化学構造とのヒト培養細胞に対する細胞毒性



## 文献

- 1) S. White, J. W. Swewczyk, J. M. Turner, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Nature* 391, 468 (1998).
- 2) S. White, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Chem. Biol.*, 4, 569 (1997).
- 3) H. Sugiyama, C. Lian, M. Isomura, I. Saito, A. H.-J. Wang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 14405 (1996).
- 4) (a) Z.-F. Tao, T. Fujiwara, I. Saito, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 4961 (1999). (b) Z.-F. Tao, T. Fujiwara, I. Saito, H. Sugiyama, *Angew. Chem. Int. Edit.*, 38, 650 (1999).
- 5) Z.-F. Tao, I. Saito, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 1602 (2000).
- 6) T. Bando, H. Iida, I. Saito, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 5158 (2001).
- 7) ヒトゲノム最前線: ポストゲノムの生物有機化学 89-110頁 2001年1月 化学同人
- 8) ピロールイミダゾールポリアミドによる遺伝子発現制御 最新医学3月号44-51頁 2001年3月.
- 9) 化学のフロンティア 遺伝子認識化合物 化学同人 印刷中.
- 10) ピロールイミダゾールポリアミドによる遺伝子機能解析 羊土社 印刷中.