

平成 27 年 10 月 21 日

**放線菌が生産する天然物ベルコペプチンの立体化学解明と作用機序解析**  
—低酸素応答シグナルを標的とした抗がん剤リード化合物の開発へ期待—

京都大学（総長：山極壽一）の掛谷秀昭 大学院薬学研究科教授、吉村 彩 同博士後期課程学生らの研究グループは、低酸素誘導因子 HIF の機能を抑制する化合物として、ストレプトミセス属放線菌が生産する天然物ベルコペプチンを見出し、その立体化学の解明と作用機序に関する有用な知見を得ました。HIF はがん分子標的治療の有望な標的であるため、本研究成果の抗がん剤リード化合物の開発への貢献が期待されます。

本研究成果は、2015 年 10 月 20 日に米国科学誌「*Organic Letters*」にオンライン掲載されました。

**研究者からのコメント：**

HIF はがん分子標的治療の有望な標的として注目されています。我々は、HIF 阻害剤として微生物代謝産物ベルコペプチンを見出し、その立体化学と作用機序の一部を明らかにしました。今後は構造活性相関研究やケミカルバイオロジー研究を推進することで、ベルコペプチンの抗がん剤リード化合物としての可能性を追求する予定です。

**ポイント：**

- ・低酸素誘導因子 HIF の機能を抑制する物質として、ストレプトミセス属放線菌が生産するベルコペプチンを見出しました。
- ・ベルコペプチンの立体化学を化学的分解実験や核磁気共鳴スペクトル(NMR)などの各種スペクトル解析により決定しました。
- ・各種生化学的手法によりベルコペプチンは mTORC1 経路を阻害し、HIF 活性を抑制することを明らかにしました。
- ・HIF はがん分子標的治療の有望な標的であるため、本研究成果が抗がん剤リード化合物の開発に貢献することが期待されます。

## 概要

### 1. 背景

低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor; HIF) は転写因子として低酸素環境下の細胞の恒常性維持に関わる遺伝子群の発現を調節します。HIF-1 $\alpha$ とHIF-1 $\beta$ からなるHIFは低酸素環境下のがん細胞の生存や悪性化に対して中心的な役割を果たしています。なかでもHIF-1 $\alpha$ は酸素濃度依存的にタンパク質量が調節されているため、がん化学療法の分子標的として注目されています。

本研究グループ<sup>1)</sup>では、HIFを阻害する化合物の取得を目的に天然資源ライブラリーを探索(スクリーニング)した結果、ストレプトミセス属放線菌 KUSC\_A08 株が生産するベルコペプチンを見出し、その立体化学の解明と作用機序に関する有用な知見を得ました。

### 2. 研究手法・成果

低酸素応答(HRE)配列の下流にルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだレポータープラスミドを安定的に発現させたヒト繊維芽肉腫細胞 5xHRE/HT1080 を用いて天然資源ライブラリー(微生物代謝産物、生薬・漢方、海洋無脊椎動物、機能性食品など)を探索した結果、ストレプトミセス属放線菌 KUSC\_A08 株の培養液がHIFの阻害活性を示しました。そこで本菌の培養抽出液から、各種カラムクロマトグラフィーを用いて活性物質を単離精製した結果、ベルコペプチン<sup>2)</sup>を得ました。次に、Marfey法、改良Mosher法、PGME法や部分構造の不斉合成による標品との比較<sup>3)</sup>により、ベルコペプチンの立体化学を10R, 15S, 16S, 23S, 27S, 28R, 31S, 33S, 35Rと決定しました(図1)。続いて、ウェスタンブロットやqPCRによりベルコペプチンはmTORC1(mammalian target of rapamycin complex 1)経路を阻害し、HIF活性を抑制することを明らかにしました(図2)。

### 3. 波及効果

今回の研究により、天然物ベルコペプチンの立体化学を明らかにし、かつ低濃度でmTORC1経路を阻害し、HIF活性を抑制することを証明しました。ベルコペプチンはHIFの過剰発現が報告されている乳がんやすい臓がんなど<sup>4)</sup>の固形腫瘍の治療薬開発のためのリード化合物として利用されることが期待されます。

### 4. 今後の予定

ベルコペプチンの部分構造を改変した誘導体を合成し、各誘導体のHIFに対する阻害活性を評価する予定です。その結果からベルコペプチンの薬効発現に重要な部分構造(ファーマコホア)を同定し、ベルコペプチンの化学構造を起点にしたHIF阻害剤の開発を行い、抗がん剤リード化合物の開発を目指します。

- 1) 京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻システムケモセラピー（制御分子学）分野  
(URL : <http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/sc-molsci/>)
- 2) a) Nishiyama, Y. *et al. J. Antibiot.* 46, 921-927 (1993); b) Sugawara, K. *et al. J. Antibiot.* 46, 928-935 (1993).
- 3) Yoshimura, A. *et al. J. Org. Chem.* 79, 6858-6867 (2014).
- 4) Semenza, G. L. *Drug Discov. Today*, 12, 853-859 (2007).

**書誌情報：**

[DOI] [10.121/acs.orglett.5b02718](https://doi.org/10.121/acs.orglett.5b02718)

“Structure elucidation of verucopeptin, a HIF-1 inhibitory polyketide-hexapeptide hybrid metabolite from an actinomycete”

Yoshimura, A., Nishimura, S., Otsuka, S., Hattori, A., Takeya, H.

*Organic Letters*. Published online; Oct. 20, 2015.

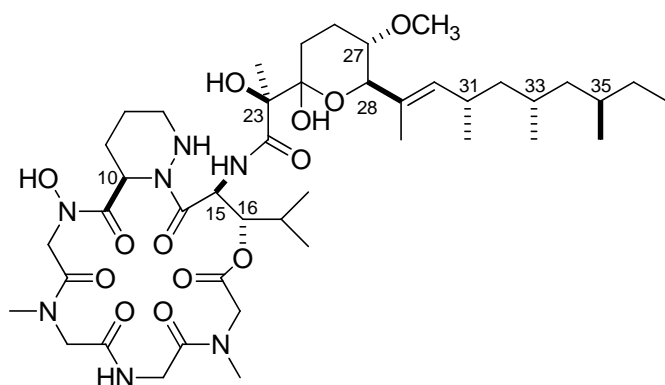


図1. ペルコペプチンの化学構造

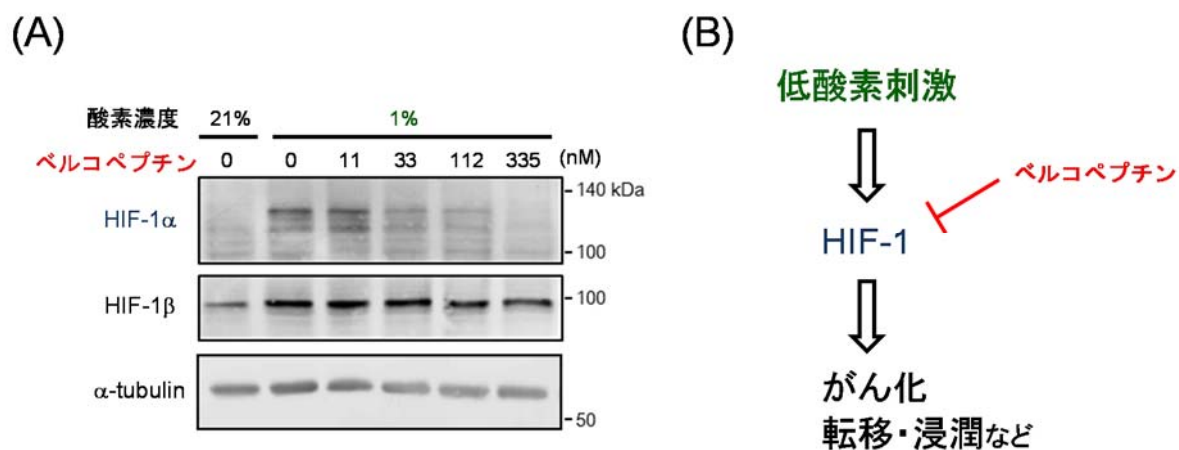


図2. ペルコペプチンによる低酸素応答シグナルの抑制

(A) ペルコペプチンは、低酸素刺激による HIF-1 $\alpha$ タンパク質の蓄積を阻害します。

ヒト繊維芽肉腫細胞株 HT1080 にペルコペプチンを添加し、常酸素濃度(21%)もしくは低酸素濃度(1%)で培養しました。その後、各細胞抽出液中の HIF-1 $\alpha$ 、HIF-1 $\beta$ 、 $\alpha$ -チューブリンのタンパク質量をウェスタンブロッティング法で検出しました。

(B) ペルコペプチンは、mTORC1 経路を阻害し、HIF 活性を抑制します。