
特命助教	Awale Suresh	Assistant Professor	Suresh Awale (Ph.D.)
研究員	上田 純也 (7月より)	Research Associate	Jun-ya Ueda (Ph.D.)

◇研究目的

天然物創薬分野では、主として、腫瘍微小環境を標的とする天然抗がん物質の探索を目的に研究を進めている。

◇研究概要

一般的ながん細胞は無秩序かつ急速に増殖するが、腫瘍血管系が脆弱で無秩序に形成されるために栄養や酸素の欠乏した環境にさらされることになる。しかしながら、がん細胞は低栄養・低酸素といった極限状態におかれると、エネルギー代謝を変えることで生存する特有の耐性機構を示す。特に、PANC-1のようなヒト膵臓がん細胞はこのような耐性を獲得しており、低栄養・低酸素といった厳しい環境下においても長期間の生存が可能となっている。したがって、がん細胞の栄養飢餓耐性を解除する化合物 (anti-austerity agent) は新たな抗がん剤探索の標的と考えられる。ほとんどの膵臓がん患者は速やかに転移を起こし、短期間で死に至る。これまで膵臓がんに対する有効な薬はなく、従来の抗がん剤に対しては耐性を示す。それゆえ、栄養飢餓耐性を標的とする天然抗がん物質の探索が、治療戦略において重要な研究課題の一つであると考えられる。この目的を達成するために、以下の研究を行っている。

我々は、伝統的知識や伝統的生薬が新たな抗がん剤、特に有効な治療法がない膵臓がんに対する抗がん剤開発の手がかりとなることを確信している。

I) 植物資源の膵臓がん細胞に対する抗がん活性スクリーニング

和漢生薬、アーユルヴェーダ生薬など各地の伝統薬で用いられる薬用資源について、栄養飢餓状態におけるヒト膵臓がん細胞 PANC-1 細胞に対する抗がん活性スクリーニングを進めている。

II) 生理活性を指標とした新規抗がん候補物質の探索

栄養飢餓耐性を解除する活性を有する生薬について、活性を指標に各種クロマトグラフィ (シリカゲル, ODS, 高性能 TLC, MPLC, HPLC) による成分の分離・精製を行い、分光学的データ (NMR, MS, UV, IR, CD) に基づく成分の構造決定を行う。リードかご物については、他のヒト膵臓がん細胞 (MIA Paca2, KLM-1, NOR-P1 など) からなる細胞パネルでの評価も行うとともに、活性成分についての構造活性相関や作用機構についての研究も行う。有望な候補物質は、ヒト膵臓がんのマウスモデルを用いた *in vivo* での抗腫瘍活性効果の評価を実施する。

III) 定量的メタボロミクス解析を利用した抗がん剤の作用機構の解明

がん細胞におけるタンパク質の発現や作用についてはよく研究されている一方、有機酸、アミノ酸、糖類、脂質のような低分子の代謝はあまり注目されていない。栄養飢餓耐性を有するがん細胞においては通常とは異なるエネルギー代謝が行われていると推察されることから、細胞内の低分子を含めた代謝物の網羅的分析は anti-austerity agent の作用機構の解明に有用であると考えられる。我々は FT-NMR および FT-MS によるメタボローム解析を進めている。

◇原著論文

- 1) Awale S., Linn T. Z., Feng L., Tezuka Y., Myint A., Tomida A., Yamori T., Esumi H., and Kadota S.: Identification of chrysopenetin from *Vitex negundo* as a potential cytotoxic agent against PANC-1 and a panel of 39 human cancer cell lines (JFCR-39). *Phytother. Res.*, **25**: 1770-1775, 2011.

Abstract: Human pancreatic cancer is known to be the most deadly disease with the lowest 5-year survival rate and is resistant to well known conventional chemotherapeutic drugs in clinical use. Screening of medicinal plants from Myanmar utilizing antiausterity strategy led to the identification of *Vitex negundo* as one of the medicinal plants having potent preferential cytotoxic activity against PANC-1 human pancreatic cancer cells. Bioactivity-guided phytochemical investigation led to the isolation of chrysopenetin (**1**) and chrysosplenol D (**2**) as the active constituents with a PC₅₀ value of 3.4 µg/mL and 4.6 µg/mL, respectively, against PANC-1 cells. Both these compounds induced apoptosis-like morphological changes in PANC-1 cells. Chrysopenetin was further tested against a panel of 39 human cancer cell lines (JFCR-39) at the Japanese Foundation for Cancer Research, and 25 cell lines belonging to lung, breast, CNS, colon, melanoma, ovarian, prostate cancer and stomach cancer cell lines were found to be highly sensitive to chrysopenetin at a submicromolar range. In the JFCR-39 panel, lung NCI-H522, ovarian OVCAR-3 and prostate PC-3 cells were found to be most sensitive with GI₅₀ of 0.12, 0.18 and 0.17 µM, respectively. The COMPARE analysis suggested that the molecular mode of action of chrysopenetin was unique compared with the existing anticancer drugs.

- 2) Devji T., Reddy C., Woo C., Awale S., Kadota S., and Carrico-Moniz D.: Pancreatic anticancer activity of a novel geranylgeranylated coumarin derivative. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**: 5770-5773, 2011.

Abstract: A series of hydroxycoumarin derivatives has been synthesized and evaluated against human pancreatic PANC-1 cancer cells under nutrient-deprived conditions. Several compounds exhibited 100% preferential cytotoxicity at low micromolar concentrations under nutrition starvation, and showed no cytotoxicity under nutrient-rich conditions. In this study, a novel geranylgeranylated ether coumarin derivative **9** was found to exhibit the highest cytotoxic activity of 6.25 µM within 24h. The preferential anti-tumor activity exhibited by compound **9** against PANC-1 under low oxygen and nutrient environment illustrates its great potential as a promising lead structure for the development of novel agents to combat pancreatic cancer.

- 3) Li F., He Y., Awale S., Kadota S., Tezuka Y.: Two new cytotoxic phenylallylflavanones from mexican propolis. *Chem. Pharm. Bull.*, **59**: 1194-1196, 2011.
- 4) Tezuka Y., Morikawa K., Li F., Auw L., Awale S., Nobukawa T., and Kadota S.: Cytochrome P450 3A4 inhibitory constituents of the bark of *Taxus yunnanensis*. *J. Nat. Prod.*, **74**: 102-105, 2011.
- 5) Thapaliya E. R., Kalauni S. K., Awale S., Adhikari A., Chaudhary M. I., and Mahandhar M. D.: Isolation and characterization of neoflavonoid and a fatty acids from propolis of *Apis mellifera* of Nepal. *J. Alp. Chem.*, **2**: 24-29, 2011.
- 6) Kharel P., Manandhar M.D., Kalauni S. K., Awale S. and Baral J.: Isolation, identification and antimicrobial activity of withanolide WS-1 Kharel P., Manandhar M.D., Kalauni S. K., Awale S. and Baral J. from roots of *Withania somnifera*. *Nep. J. Sci. Tech.*, **12**: 179-186, 2011.
- 7) Dhakal R. C., Kalauni S. K., Awale S., Shrestha K., and Gewali M. B.: Isolation and characterization of sterols and an aliphatic alcohol from *Tsuga dumosa* D. Don of Nepal. *Scientific World*, **9**: 16-17, 2011.

◇学会報告（*: 特別講演, シンポジウム, ワークショップ等）

- 1) Dibwe D. F., Awale S., Tezuka Y., Esumi H., and Kadota S.: *Securidaca longepedunculata* の成分と栄養飢餓状態選択的細胞毒性. 日本薬学会第 131 年会, 2011, 3/28-31, 静岡.
- 2) Feng L., Chang J.-C., Dibwe D. F., Awale S., Kadota S., and Chiou R. Y.-Y.: Antioxidant and anti-cancer activities of peanut arahypin-5 and other stilbenoids. The 43rd Annual Meeting of American Peanut Research and Education Society, 2011, 7/12-14, San Antonio, Texas, USA
- 3) Dibwe D. F., Awale S., Kadota S., and Tezuka Y.: Constituents of *Securidaca longepedunculata* and their preferential cytotoxicity against human pancreatic cancer cells. 日本生薬学会第 58 回年会, 2011, 9/24-25, 東京.
- * 4) Awale S.: Progress in the discovery of natural anti-cancer agents that retard cancer cells tolerance to nutrition starvation. The 13th International Symposium on Traditional Medicine in Toyama 2011 (ISTM2011), 2011, 10/13-14, Toyama.

◇その他

- * 1) Suresh Awale: Discovery of anti-austerity strategy based natural anticancer agents from traditional medicinal plants. University of Traditional Medicine, 2011, 3, 18, Mandalay, Myanmar.

◇共同研究

海外

- 1) Sirivan Athikomkulchai : タイ・シーナカリンウィロート大学, 2011, 4～
- 2) Surya Kant Kalauni : ネパール・トリブバン大学, 2011, 4～
- 3) Mai Thanh Thi Nguyen : ベトナム・国立ホーチミン市大学, 2011, 4～

◇国際交流

- 1) Suresh Awale : 論文博士号取得希望者に対する支援事業（日本学術振興会 論博事業）による派遣, 2011, 3/13～3/21, ミャンマー, 論博研究者 Thein Zaw Linn.

◇研究費取得状況

- 1) 平成 22 年度和漢医薬学総合研究所公募型共同研究, 一般研究 I（分担: 手塚康弘, Suresh Awale）「Arctigenin をリード化合物とした新規メカニズムに基づく膵臓がん治療薬の合成化学的アプローチ」.

◇研究室在籍者

研究員: 上田純也 (2011, 7～)