

## ◇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不規則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 (antiausterity 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。リード化合物については、他のヒト膵臓がん細胞 (MIA Paca2, KLM-1, NOR-P1, Capan-1, PSN-1 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 antiausterity 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) Nguyen H.X., Nguyen N.T., Dang P.H., Thi P.H., Nguyen M.T.T., Can M. V., Dibwe D.F., Ueda J., Awale S.: Cassane diterpenes from the seed kernels of *Caesalpinia sappan*. *Phytochemistry*, 122: 286–293, 2016.
- 2) Farley C.M., Dibwe D.F., Ueda J., Hall E.A., Awale S., Magolan J.: Evaluation of Synthetic Coumarins for Antiausterity Cytotoxicity against Pancreatic Cancers. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26: 1471-1474, 2016.
- 3) Klionsky D.J., Abdelmohsen K., Abe A. et al.: Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*, 12: 1-222, 2016.
- 4) Nguyen M.T.T., Nguyen N.T., Awale S.: Prenylated Dihydrochalcones from *Artocarpus altilis* as Antiausterity Agents. *The Enzymes*, 37: 95-110, 2015.
- 5) Sharma K.R., Kalauni S., Awale S.: Antioxidant, Phytotoxic and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract of *Bauhinia variegata* Barks. *J. Inst. Sci. Tech.* 20 (2): 37-41, 2015.
- 6) Dibwe D.F., Awale S., Morita H., Tezuka Y.: Anti-austeritic Constituents of the Congolese Medicinal Plant *Aframomum melegueta*. *Nat. Prod. Commun.* 16: 997-999, 2015.
- 7) Sharma K.R., Kalauni S., Awale S., Pokharel Y.R.: In Vitro Free Radical Scavenging Activity of Methanol Extracts of Some Selected Medicinal Plants of Nepal. *Austin J. Biotechnol. Bioeng.* 2: 1-5, 2015.
- 8) Sharma K.R., Kalauni S., Awale S.: Cytotoxic and Antioxidant Activities of Extract of the Leaves of *Annona reticulata*. *J. Univ. Gnt. Comm.* 4: 10-18, 2015.
- 9) Sharma K.R., Adhikari A., Choudhary K. I., Awale S., Kalauni S.: Bioassay Guided Isolation of Free Radical Scavenging Agent from the Bark of *Bridelia retusa*. *J. Inst. Sci. Tech.* 20 (1): 97-101, 2015.

#### ◇学会報告 (\*: 特別講演, シンポジウム, ワークショップ等)

- 1) Suresh Awale: Discovery of Natural anti-cancer agents that Retard Cancer Cell's Tolerance to Nutrition Starvation. 富山発先端ライフサイエンス若手育成拠点シンポジウム, 2015, 3, 13, 富山.
- 2) Suresh Awale, 上田純也, Bhushan Shakya, Paras Nath Yadav: Discovery of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones as potent antiausterity agents. 日本薬学会第 135 年会, 2015, 3, 25-28, 神戸.
- 3) Dya Fita Dibwe, 上田純也, Suresh Awale: Anti-austeritic constituents of Japanese Cypress *Chamaecyparis obtusa*. 日本薬学会第 135 年会, 2015, 3, 25-28, 神戸.
- 4) 上田純也, Ahmed M. Tawila, Sirivan Athikomkulchai, Dya Fita Dibwe, Suresh Awale: タ

- イ産植物 *Uvaria dac* 葉部由来新規 tetrahydrobenzyl benzoate 誘導体の構造. 日本薬学会第 135 年会, 2015, 3, 25-28, 神戸.
- 5) 松本欣三, 藤原博典, 韓 垚羽, Awale Suresh, 荒木良太, 矢部武士: AD/HD 様動物モデルでの病態発症機構と漢方薬作用: 隔離飼育マウスでの検討. 第 32 回和漢医薬学会学術大会 Symposium 「精神疾患の緩和・治療に向けた漢方医薬学的アプローチ」オーガナイザー, 発表者, 2015, 8, 22-23, 富山.
  - 6) 韓 垚羽, 藤原博典, 岡田亮, Awale Suresh, 荒木良太, 矢部武士, 松本 欣三: 隔離飼育マウスにおける ADHD 様行動の発現とそれに対する漢方薬・抑肝散の効果の検討. 生体機能と創薬シンポジウム, 2015, 8, 27-28, 千葉.
  - 7) Dya Fita Dibwe, Suresh Awale: Hinoki (ヒノキ, 檜) from Toyama: A potential source for the novel anti-pancreatic cancer drug discovery. 平成 27 年度富山大学若手研究者等の学術交流・発表会, 2015, 9, 8, 富山.
  - 8) Dya Fita Dibwe, 上田純也, Suresh Awale: Preferential cytotoxic activity of Brazilian green propolis and sesamin powder extracts against a panel of five human pancreatic cancer cell lines. 日本生薬学会第 62 回年会, 2015, 9, 10-11, 岐阜.
  - 9) Kinzo Matsumoto, Youu Hang, Ryo Okada, Ryohei Tsushima, Hironori Fujiwara, Suresh Awale, Ryota Araki, Takeshi Yabe: Social isolation rearing of mice, a putative animal model of ADHD, and Kampo medicines. 第 14 回日本臨床中医薬学会学術大会, 2015, 9, 29, 富山.
  - 10) Dya Fita Dibwe, 上田純也, Suresh Awale: Anti-austerity activity of Brazilian green propolis extract against human pancreatic cancer cell lines. 第 14 回日本臨床中医薬学会学術大会, 2015, 9, 29, 富山.
  - \* 11) Suresh Awale, Dya Fita Dibwe: Chemical constituents of the Japanese cypress “Hinoki” and their anti-austerity activity against human pancreatic cancer cell lines. 第 14 回日本臨床中医薬学会学術大会, 2015, 9, 29, 富山.
  - 12) Dya Fita Dibwe, Jun-ya Ueda, Suresh Awale: Drug discovery for pancreatic cancer: chemical constituents of *Uvaria dac* and their antiausterity activity against human pancreatic cancer cell lines. The 8<sup>th</sup> Takeda Science Foundation Symposium on Pharma Sciences "Biomolecule-Based Medicinal Science: Featuring Mid-Size Drugs" 2016, 1, 21-22, Osaka.
  - 13) Suresh Awale, Jun-ya Ueda, Dya Fita Dibwe, Mai Thanh Thi Nguyen: Chemical constituents of *Artocarpus altilis* from Vietnam and their antiausterity activity. 日本薬学会第 136 年会, 2016, 3/26-29, 横浜.

## ◇共同研究

### 国内

- 1) 江角浩安: 国立がん研究センター東病院, 「栄養飢餓耐性を標的とする天然抗腫瘍物質の研究」, 2012, 8~
- 2) 松本欣三: 複合薬物薬理学分野, 2015, 4~
- 3) 上田純也: 広島国際大学, 2015, 4~

### 海外

- 1) Sirivan Athikomkulchai: タイ・シーナカリンウィロート大学, 「タイ薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究」, 2011, 4~

- 2) Surya Kant Kalauni : ネパール・トリブバン大学, 「ネパール薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究」, 2011, 4～
- 3) Mai Thanh Thi Nguyen : ベトナム・国立ホーチミン市大学, 「ベトナム薬用植物の栄養飢餓耐性を標的とする抗がん物質の探索研究」, 2011, 4～
- 4) Bhusan Shakya : ネパール・トリブバン大学, 「栄養飢餓耐性を標的とする合成抗がん物質の探索研究」, 2012, 4～
- 5) Jakab Magolan: Department of Chemistry, University of Idaho, USA “Synthesis of coumarin derivatives as antiausterity agents” 2012, 4～
- 6) Mark Coster: Eskitis Institute for Cell and Molecular Therapies, Griffith University, Australia “Total synthesis of antiausterity agents”. 2015, 10～
- 7) Lih-Geeng Chen: Department of Microbiology, Immunology and Biopharmaceuticals, National Chiayi University, Taiwan. “Screening of Taiwanese medicinal plants for antiausterity activity and discovery of natural anticancer agents” 2015, 9～
- 8) Yu-Jang Li: Department of Applied Chemistry, National Chiayi University, Taiwan. “Synthesis of antiausterity strategy based anticancer agents” 2015, 9～

#### ◇非常勤講師

- 1) Suresh Awale: NMR workshop. National Chiayi University, 2015, 9/7, Chiayi, Taiwan
- 2) Suresh Awale: Drug Discovery for Pancreatic Cancer: Strategies and Leads from Natural Medicine. National Chiayi University, 2015, 9/8, Chiayi, Taiwan
- 3) Suresh Awale: Structure Elucidation of Natural Products: Tools and Techniques. National Chiayi University, 2015, 9/8, Chiayi, Taiwan
- 4) Suresh Awale: Basic Principals of Symmetry, Circular Dichroism and its Application in Stereochemistry. National Chiayi University, 2015, 9/12, Chiayi, Taiwan

#### ◇研究費取得状況

- 1) 2015年度文部科学省科学研究費補助金基盤研究(C) (代表: Suresh Awale・継続) 「栄養飢餓耐性を有する膵臓がん細胞の代謝学的特徴および耐性関連バイオマーカーの探索」
- 2) 2014-2015年度みつばち研究助成基金(株式会社山田養蜂場) 「健康科学・予防医学 研究助成」 (代表: Suresh Awale)