

〈総 説〉

天然物スクリーニングによる制がん剤シードの探索研究

井本正哉

慶應義塾大学理工学部

(2018年10月2日受付)

高齢化に伴いわが国でも罹患率が急上昇している去勢抵抗性前立腺がんの治療薬シードのスクリーニングから放線菌が生産する新規化合物アンタルライドを発見した。アンタルライドは第2世代のアンドロゲン受容体 (AR) アンタゴニストであるエンザルタミド耐性ARに対してもアンタゴニスト活性を示し、耐性を克服できる可能性を示唆した。一方、Bcl-2/Bcl-xLが過剰発現することでアポトーシスに耐性となったがんに対する制がん剤シードとして、放線菌培養液からインセドニンを発見した。インセドニンは脂肪酸合成に関わる酵素を阻害することで、アポトーシス耐性を克服する作用があることを明らかにした。また、がんと密接に関係があると考えられているオートファジーの制御物質を微生物培養液から探索し、キサントフモールを単離した。さらにキサントフモールがValosin-containing protein阻害を介してオートファジーを阻害していることを明らかにした。一方、ヒトがんでその変異が観察されている β カテニンを標的とした制がん剤シードの探索を行い、メタシクロプロジギオシン (mcPG) やノナクチンなどに目的の活性を見出した。このことから、ミトコンドリアを標的とすることが β カテニン突然変異を有するがん細胞にとって潜在的な化学療法戦略であることを示唆している。

はじめに

がん研究の飛躍的進歩にもかかわらず日本ではがんが主な死因であり、有効な治療薬の開発が期待されている。近年、がん発症に関わる遺伝子を標的にする分子標的治療薬ががん治療に大きく貢献している。この分子標的薬の開発では、いかにして新たな薬剤標的分子を探すか、そしていかにして効率良くリード化合物を得るかという点が問題となる。一方、ケミカルバイオロジーは多様な

構造と生理活性を有する化合物を用いて生体分子の機能を制御し、その生物学的解析から生命現象を解明する学問領域である。したがってケミカルバイオロジー研究では、多彩な機能を持つ小分子化合物を見いだすことが非常に重要であり、そこで見いだした小分子化合物の標的分子が疾患関連分子である場合には疾患治療薬の新たな標的の提唱につながるだけでなく、その小分子化合物自身が分子標的治療薬のリード化合物になる可能性もある。このことから、ケミカルバイオロジーは次世代新薬の開発のための有用な手法として期待さ

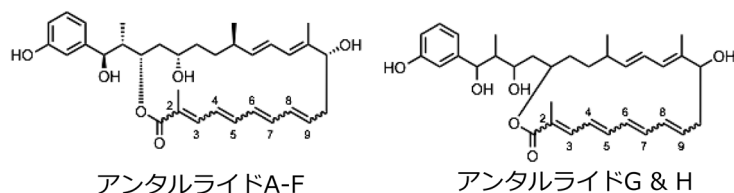
れている。このような創薬シードとなるような小分子化合物は従来から天然化合物、特に微生物二次代謝産物からスクリーニングされてきた。近年は、合成化合物ライブラリーを用いたスクリーニングが主流になってきたとはいえ、構造の多様性と多彩な生理活性を示す微生物二次代謝産物からのスクリーニングは依然、大きな魅力である。本稿では、我々が行った微生物二次代謝産物からがん治療シードの探索研究とケミカルバイオロジー研究について概説する。

前立腺がん治療薬シードの探索研究

近年、日本において急増しているがんの一つに前立腺がんがある。前立腺がんは男性に特有のがんであり、2020年には国内の罹患率が第2位になることが予想されている。男性ホルモン（以下アンドロゲン）がアンドロゲン受容体（AR）に結合することで生じるシグナル伝達が前立腺がんの悪性化の中心的な役割を果たすことから¹⁾、進行性前立腺がんの男性にとっては、薬や外科的去勢によるアンドロゲンの欠乏が標準的な第一選択治療である。しかし時間の経過と共にがんは再燃し、「去勢抵抗性前立腺がん（Castration Resistant Prostate Cancer: CRPC）」と呼ばれるより悪性度の高い病態へと移行する。CRPCには、アンドロゲンとARとの結合を競合的に阻害するARアンタゴニストが治療薬の一つとして用いられる。しかし、ARアンタゴニストの長期使用により耐性を示す変異体ARの出現が問題視されてきた。近年、より効果的かつ長期的なAR阻害の必要性から第

2世代のARアンタゴニストであるエンザルタミドが登場した²⁾。しかし、既にエンザルタミド耐性を示す変異体ARの出現が報告されている。この問題を克服するには既存のARアンタゴニストとは異なった構造を有するARアンタゴニストが必要とされる。そこで、新しいタイプのARアンタゴニストのスクリーニングを行い、放線菌の一種 *Streptomyces* sp. BB47株の培養液から新規化合物アンタルライドA-Fを発見した^{3,4)}。アンタルライドA-Fは22員環の新規な大環状構造を有するマクロライドの一種であり、お互いに幾何異性体であることが明らかとなった（図1）。その後、同じ放線菌株から20員環マクロライド構造を有するアンタルライドファミリーのアンタルライドGおよびH（図1）を発見した⁴⁾。アンタルライド類の *in vitro* における [³H]-DHTとARの結合阻害活性を評価した結果、既存薬の一つであるフルタミドはIC₅₀=38 μMであるのに対し、アンタルライド類はそれよりも強い活性（10~20 μM）を有していることが分かった。一方、ARと同じ核内受容体スーパーファミリーに属するERαとそのリガンドである [³H]-エストラジオールの結合は阻害しなかった（IC₅₀>100 μM）。このことから、アンタルライド類はAR特異的に結合することがわかった。また、アンタルライド類が示すARアンタゴニスト活性に、幾何異性の組み合わせや環構造の大きさは影響しないことが示唆された。次に、アンタルライド類が細胞レベルでもARアンタゴニスト活性を示すか評価した。ここでは、アンタルライド類の中で最も安定性の高いアンタル

図1. アンタルライド類の構造



ライドBを用いた。その結果、アンタルライドBは前立腺がん細胞LNCaPにおいて、DHTにより誘導されるマーカー遺伝子PSA mRNAの発現及び細胞増殖をそれぞれIC₅₀値0.18, 0.31 μ Mで抑制した。フルタミドのIC₅₀値はそれぞれ2.3, 1.1 μ Mであり、それよりも強い活性を有していた。以上より、アンタルライドBは細胞レベルでもARアンタゴニスト活性を示すことが分かった³⁾。

続いて、既存薬に対して耐性を示す変異体ARに対してもアンタゴニスト活性を示し、耐性を克服できるか評価した。ヒト胎児腎細胞HEK293Tに野生型もしくはエンザルタミド耐性変異AR (F876L) 遺伝子発現プラスミド及びPSAのプロモーター領域のプロモーター領域をルシフェラーゼに連結させたレポータープラスミドを発現させ、レポーターアッセイにより耐性克服活性を評価した。その結果、アンタルライドB及びGは野生型だけでなく、エンザルタミド耐性変異 (F876L) ARに対してもアンタゴニスト活性を示し、耐性を克服できる可能性が示唆された (図2)。このことからアンタルライド類は第3世代のARアンタゴニスト候補化合物としてのポテンシャルを秘めていることを意味している^{3,4)}。

アポトーシス耐性がん細胞に対する創薬シード探索

多くのヒト腫瘍においてアポトーシス抑制タンパク質Bcl-2やそのホモログであるBcl-xLの過剰

発現が見られる^{5,6)}。Bcl-2/Bcl-xLの過剰発現は細胞の正常なターンオーバーを妨げ、がん化やがん悪性化に関与するだけでなく、既存の抗がん剤に対して抵抗性を示し、薬剤耐性化の一因になる。そこでBcl-2/Bcl-xL過剰発現ヒト腫瘍に対する治療薬シードを開発することを目的に、Bcl-2/Bcl-xLの機能を阻害する物質を探索した。Bcl-xLを過剰発現したヒト小細胞肺癌Ms-1細胞 (Ms-1/Bcl-xL) は種々の抗がん剤に耐性を示すことから、抗がん剤と同時に添加したときにのみ細胞死を誘導する物質を微生物代謝産物より探索した。その結果、*Streptomyces* sp. 694-90F3株の培養液中に新規物質インセドニンを発見した⁷⁾。インセドニンは非常に不安定な物質であり、その単離精製は困難を極めたが、遠心液々分配クロマトグラフィーとMSクロマトグラフィーを駆使することで単離に成功した。インセドニンの構造は各種NMRスペクトル解析、コンピュータモデリングにより平面及び相対立体構造を決定し、改良型Mosher法、X線構造解析によりその立体絶対配置を決定した (図3)。すなわちインセドニンは、そのアグリコンに天然物には珍しい骨格 (エノールエーテル-アミド) を有する新規24員環マクロラクタム配糖体であった。

次にインセドニンのBcl-2/Bcl-xL機能阻害活性を評価した。Bcl-xLを過剰発現させたヒト小細胞肺癌Ms-1細胞はアドリマイシンなどの制がん剤に耐性を示すがインセドニンを処理することによりその耐性を克服した。またインセドニンはBcl-xLによるBax誘導性アポトーシス抑制機能をキャンセルすることがわかった。さらにインセ

図2. アタルライドによるエンザルタミド耐性の克服

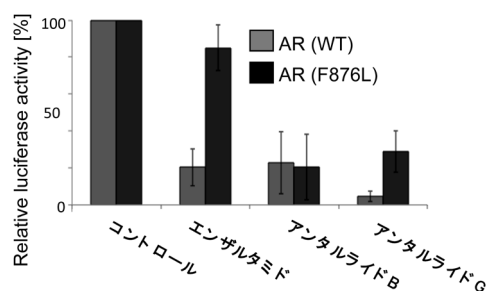
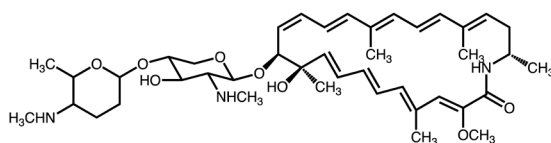


図3. インセドニンの構造



ドニンと抗がん剤の共処理によって誘導される細胞死誘導機構を解析したところ、AIFを介したカスパーゼ非依存的経路で誘導されることが示唆された。これまでに報告されているBcl-2阻害剤の多くはBaxとBcl-2の結合を阻害しカスパーゼ依存的な細胞死を誘導することで作用を発揮することが知られているが、インセドニンはBaxとBcl-xLの結合に影響を与えなかった。このことからインセドニンは既存の薬剤とは異なるメカニズムでBcl-xLの機能を抑制していることが示唆された。

そこで次にインセドニンの標的タンパク質の同定を試みた。まずインセドニンのアフィニティービーズを用いてインセドニン結合タンパク質を同定した結果、53種類のタンパク質が同定された。しかし、これらはいずれもインセドニンの機能的標的タンパク質ではないことがわかったことから、慶應義塾大学理工学部の榊原康文教授が開発されたCOPICAT^{8,9)}を用いてインセドニンの結合タンパク質を予測した。その結果、24245個のヒトのタンパク質の中で182個のタンパク質が新たにインセドニン結合タンパク質として予測された。さらにメタボローム解析の結果を用いて候補タンパクを絞り込み、それらのビオチン標識インセドニンとの結合を検証し、最終的にACACA (アセチルCoAカルボキシラーゼ α)がインセドニンの機能的標的分子であると示唆された。ACACAは長鎖脂肪酸合成過程でアセチルCoAからマロニルCoAを合成する律速酵素であり、エネルギー生産と脂質合成に重要な役割を演じている。がん細胞の増殖や生存は脂肪酸合成に依存しており、ACACAは多くのがん細胞で高い発現が観察されていることからACACAがBcl-xL過剰発現細胞の生存に深く関わっていることが考えられ、これらのことからACACAがインセドニンの機能的標的分子であると示唆された¹⁰⁾。

オートファジーを標的とした制がん剤の探索

オートファジーは、進化的に保存された細胞内成分の分解経路であり、細胞ホメオスタシスの維持に重要である^{11,12)}。オートファジーのメカニズムおよび機能は、一連のオートファジー関連遺伝子を同定した酵母の遺伝子研究によって明らかにされているが、オートファジーを誘導または阻害する小分子化合物は、オートファジープロセスのメカニズムおよび機能についての解析に貢献している。また、近年、オートファジーはがんや神経変性疾患の発症に深く関与していることが報告されており注目されている細胞応答の一つであるが、その制御メカニズムは不明な点が多い。そこで、オートファジー制御メカニズムをより深く理解するために微生物培養液からオートファジー制御化合物の探索を行った。オートファジーでは、まず細胞質に隔離膜と呼ばれる扁平な膜構造が現れる。その後、隔離膜が細胞質成分を包み込むように伸長及び湾曲し、最後に末端同士が融合してオートファゴソームと呼ばれる二重膜構造が形成される¹³⁾。続いて、オートファゴソームはリソソームと融合して、一重膜構造であるオートリソソームになり、リソソームに含まれていた加水分解酵素が隔離された細胞内小器官等を分解する¹²⁾。LC3-IIは、オートファゴソームの内外表面に組み込まれているため、緑色蛍光タンパク質 (GFP)-LC3融合タンパク質の発現を用いて、オートファジーを表すGFP斑点を検出することができる¹⁴⁾。このシステムを用いてオートファジーを調節する化合物を同定したところ、放線菌の一株が生産するキサントフォーム (図4) が顕著にオートファジーのマーカーであるLC3-IIの発現上昇を誘導することが分かった¹⁵⁾。さらにオートファジーの選択的基質であるp62の発現量が上昇することから、キサントフォームはオートファゴソーム形成を誘導しているのではなく、オートファゴソームのオートリソソームへの成熟を阻害し、結果として

図4. キサントフモールの構造

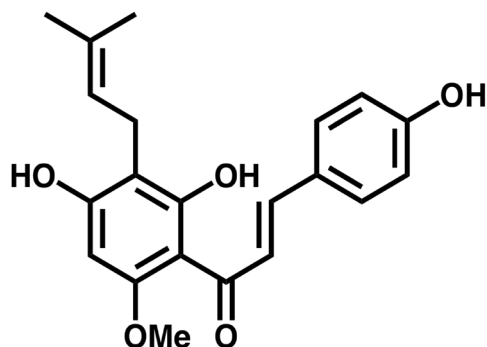


図5. キサントフモールの抗がん効果



HCT116細胞担癌マウスにキサントフモールを静脈注射し、17日後に癌の体積を測定した。

LC3-IIの発現上昇を誘導していることが明らかとなった。さらに詳細に作用機構を解析するためにキサントフモールの標的タンパク質の同定を試みた。理化学研究所長田裕之博士より御提供いただいたXNアフィニティービーズを用いてA431細胞抽出液からキサントフモールの標的タンパク質を探索した。その結果、valosin-containing protein (VCP) をXNの結合タンパク質として見いだした¹⁵⁾。VCPはATPases associated with diverse cellular activities (AAA-ATPase)の一つであり、そのN末端ドメインに様々なコファクターが結合することで様々な機能を有することが報告されている。その一つにオートファゴソームがオートリソソームへ成熟する過程に必須であることが報告されている¹⁶⁾。そこで、キサントフモールとVCPが直接結合しているのかを検証した。その結果、キサントフモールはVCPのN末端ドメインに結合することが明らかとなった。以上の結果から、キサントフモールはVCPに結合しその機能を抑制し、オートファゴソームの成熟を阻害することが示唆された。

一方、VCPは近年がん細胞で過剰発現しているとの報告がされている。そこで次にキサントフモールによる抗がん活性を検討した。キサントフモールに対して高い感受性を示すがん細胞と感受性の低いがん細胞が存在することを見出し、高い

感受性を示したがん細胞ではキサントフモール処理によって抗アポトーシスタンパク質サバイビンの発現減少が誘導されることを見出した¹⁷⁾。

次にキサントフモール感受性細胞に対するXNの抗腫瘍効果を徳島大学の片桐豊雅教授に依頼して評価していただいた。大腸がん細胞HCT116細胞やSW480細胞を移植したヌードマウスにキサントフモールを静脈注射によって投与した。その結果、顕著な体重減少なしに、用量依存的に各異種移植片モデルにおいて腫瘍増殖阻害が観察された(図5)。これらの結果は、キサントフモールがヒト腫瘍細胞系に対しても*in vivo*で抗腫瘍活性を示したことを示した¹⁷⁾。

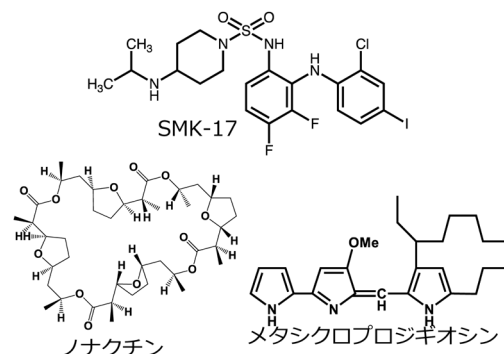
さらにキサントフモールが示す制がん効果のさらなる解析を目的に、東京医科歯科大学石川俊平教授との共同研究で、網羅的shRNAスクリーニングによってキサントフモールの感受性を増強させる遺伝子を探索した。27500種類のshRNA感染ウイルスをHCT116細胞に感染させ、キサントフモールの存在下と非存在下で3日間培養し、それぞれの細胞からshRNAを回収した。その結果、キサントフモール存在下で非存在下に比べて5倍以上回収量が少ないshRNAが138種類あった。このことは、これらshRNAに対応する138遺伝子はキサントフモールの制がん効果に促進効果を示すこ

とを示している。次にこの138遺伝子の役割をバイオインフォマティクスで解析したところ、アデニル酸シクラーゼ/プロテインキナーゼAシグナル伝達経路がキサントフモールの合成致死作用に関連することを示唆する結果が得られた。また、アデニル酸シクラーゼ/プロテインキナーゼAシグナル伝達経路がサバイビンの発現制御を介してキサントフモールの抗がん活性を抑制的に制御していることを見出し、プロテインキナーゼAの阻害剤はキサントフモールによってVCPが阻害された細胞に合成致死活性を誘導することを見出した¹⁷⁾。

β カテニン変異の合成致死誘導物質

MAPKシグナル経路は、細胞の増殖/生存シグナルを制御する重要な経路であり、この経路のうち膀胱がん、大腸がんなどのヒト腫瘍ではK-RASやBRAFの活性型変異が観察されている¹⁸⁾。このことから、K-RASやBRAFの下流で作用するMEKの阻害剤はK-RASやBRAFの変異したがんに対して有効な抗腫瘍制がん剤になると期待され、特にBRAF変異がんに対する治療薬として臨床応用された^{19,20)}。しかし、その効果は限定的であった。その理由としてMEK阻害剤はこれらのがん細胞に対して細胞増殖抑制は誘導するが、細胞死を誘導できないためにMEK阻害剤に耐性ながんが出現することが一因と考えられている。一方、第一三共株式会社に開発されたMEK阻害剤SMK-17は、結合ドメイン解析からMEKのATP近傍ポケット構造に入りこみ、他の多くの化合物で見られるATP結合競合とは異なる様式、つまりアロステリック阻害をしていることを示唆していた。カイネティクス解析からも、ATP濃度によらずMEK1を阻害できることから完全なATP非競合阻害薬であることが示された。さらに、200種以上のキナーゼプロファイリングではMEK1/2以外のいかなるキナーゼも阻害しないことを確認した²¹⁾。そ

図6. β カテニン変異癌に選択的細胞死を誘導する化合物の構造



こで我々はMEK選択的阻害化合物SMK-17 (図6)を用い、MEK阻害薬の新たな感受性規定因子同定を試みた。様々な遺伝子変異を有する24種類のがん細胞株に対し、SMK-17のアポトーシス誘導活性を評価した。その結果、SMK-17はK-RAS変異やBRAF変異の有無に関わらず β カテニン活性型変異を有するがん細胞株に選択的にアポトーシスを誘導した。 β カテニンはWnt経路の構成要素であり、活性型に変異している場合、細胞増殖シグナル伝達は過剰に活性化され腫瘍形成を促進する²²⁾。 β カテニン活性型変異を有するがん細胞株に対する選択的アポトーシス誘導は、他のMEK阻害剤PD184352やU0126でも同様に確認された。 β カテニン変異がSMK-17によるアポトーシス誘導に関わっていることを調べるために、 β カテニン野生型細胞に活性化型変異 β カテニンを強制発現したところ、SMK-17添加によりアポトーシスが誘導された。また反対に β カテニン変異がん細胞にWnt pathway下流のTCF4を不活化するドミナントネガティブTCF4を強制発現したところSMK-17によるアポトーシス誘導活性が減弱された。さらに β カテニン変異を有するヒト大腸がん細胞株SW48やcolo-205を移植したマウスを用いた*in vivo*抗腫瘍試験においてもSMK-17の経口投与により腫瘍退縮が確認された。 β カテ

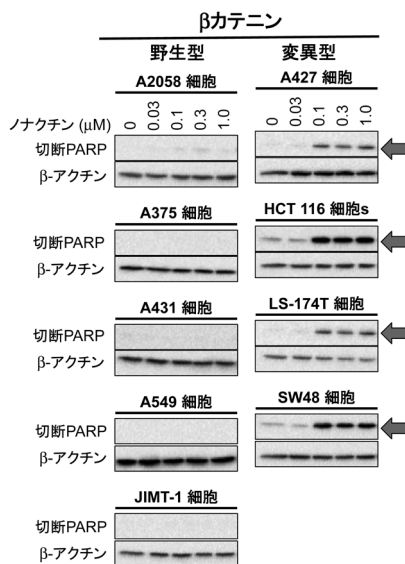
ニンは、すべての散発性結腸がん腫の10%、肝細胞がん腫の20%など広範囲の腫瘍で変異が観察されており、これらのがんの治療薬開発の有望な標的と考えられている。このことからMEK阻害剤は β カテニン変異がんに対し、単独投与で効果を発揮する新しいタイプの分子標的治療薬となると考えられる。

一方、私たちは、MEK阻害活性を持つことなく β カテニン突然変異に対して合成致死性を示す化合物を微生物培養液から探索した。放線菌培養液サンプル879サンプルについて検証したところ、K622株にそのような活性を見出した。K622株培養液から活性本体の単離精製を進めた結果、V-ATPase阻害剤であるメタシクロプロジギオシン (mcPG) (図6) を活性本体として同定した²³⁾。また、 β カテニン変異型がん細胞はmcPGおよび他のV-ATPase阻害剤バフィロマイシン1、コンカナマイシンAのすべてに感受性が高いことが分かった。さらに、野生型HEK-293T細胞に変異 β カテニンを過剰発現させるとV-ATPase阻害剤によって細胞死が誘導されたことから、V-ATPase阻害剤は変異 β カテニンに依存して細胞死を誘導することが示唆された²⁴⁾。

mcPGの誘導する細胞死は、Caspase-8を介したカスパーゼ依存的な細胞死であることが示唆された。そこで、カスパーゼ-8の活性化に重要なFasやDR4/5といったDeath Receptorに着目して細胞死誘導機構を解析しようと試みた。その結果、V-ATPase阻害剤の誘導する細胞死がDR4をノックダウンすることで抑制されたことから、V-ATPase阻害剤の細胞死誘導機構にDR4が関与していることが示唆された。

しかし、 β カテニンのノックダウンによるmcPG細胞死誘導の抑制程度が低いことや、V-ATPase阻害剤が臨床で用いられていないことなどを踏まえると、V-ATPase以外の分子を標的とする化合物の取得が望ましいと考え、さらに、放線菌培養液か

図7. β カテニン変異癌に対するノナクチンの選択的細胞死誘導



各細胞にノナクチンを24時間処理したのちの細胞死誘導効果をPARPの切断(矢印)で評価した。

らスクリーニングを継続した。その結果、ミトコンドリア脱共役剤であるノナクチン (図6) が、 β カテニン変異がんに対して選択的に細胞死を誘導することを見出した (図7)。またノナクチンだけでなく他のミトコンドリア脱共役剤も、 β カテニン突然変異腫瘍細胞においてアポトーシスを選択的に誘導した。さらに動物実験においても、ノナクチンの連日投与に応答して、 β カテニン変異型HCT116異種移植片モデルにおいて有意な腫瘍退縮が観察された²⁵⁾。これらの結果は、ミトコンドリアを標的とすることが β カテニン突然変異を有する腫瘍細胞にとって潜在的な化学療法戦略であることを示唆している。

おわりに

微生物培養液などを用いた天然物スクリーニングからの創薬研究は縮小傾向にある。それは、合成化合物に比べて誘導体展開が困難であることや、

近年は新規骨格を有する新規化合物の取得が困難であることが原因と考えられる。しかし、天然化合物の持つ「構造多様性」や「多彩な生理活性」は依然、大きな魅力であることから、微生物のゲノム情報を利用して休眠遺伝子の覚醒技術の開発や生合成遺伝子の改変技術による新規化合物の取得を目指す研究が精力的に展開されている。これらの技術を駆使して、創薬を志向する天然物スクリーニングの再興が期待される。

利益相反自己申告

申告すべきものなし

〔この総説は、2000年度住木・梅澤記念賞受賞者井本正哉博士が受賞後の研究をまとめたものです。〕

参考文献

- 1) Heinlein CA, Chang C: Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr Rev.* 2004; 25: 276–308.
- 2) Tran C, Ouk S, Clegg NJ, *et al.*: Development of a second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer. *Science* 2009; 324: 787–90.
- 3) Saito S, Fujimaki T, Panbangred W, Igarashi Y, Imoto M: Antarlides A new type of androgen receptor (AR) antagonist that overcomes resistance to AR-targeted therapy. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2016; 55: 2728–32.
- 4) Saito S, Fujimaki T, Panbangred W, Sawa R, Igarashi Y, Imoto M: Antarlides F-H, new members of the antarlides family produced by *Streptomyces* sp. BB47. *J Antibiot (Tokyo).* 2017; 70: 595–600.
- 5) Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM: Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985; 228: 1440–3.
- 6) Wang S, Yang D, Lippman ME: Targeting Bcl-2 and Bcl-XL with nonpeptidic small-molecule antagonists. *Semin Oncol.* 2003; 30: 133–42.
- 7) Futamura Y, Sawa R, Umezawa Y, *et al.*: Discovery of incednine as a potent modulator of the anti-apoptotic function of Bcl-xL from microbial origin. *J Am Chem Soc.* 2008; 130: 1822–3.
- 8) Nagamine N, Sakakibara Y: Statistical prediction of protein chemical interactions based on chemical structure and mass spectrometry data. *Bioinformatics.* 2007; 23: 2004–12.
- 9) Nagamine N, Shirakawa T, Minato Y, *et al.*: Integrating statistical predictions and experimental verifications for enhancing protein-chemical interaction predictions in virtual screening. *PLoS Comput Biol.* 2009; 5: e1000397.
- 10) Kobayashi H, Harada H, Nakamura M, *et al.*: Comprehensive predictions of target proteins based on protein-chemical interaction using virtual screening and experimental verifications. *BMC Chem Biol.* 2012; 12: 2.
- 11) Ohsumi Y: Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001; 2: 211–6.
- 12) Yoshimori T: Autophagy: A regulated bulk degradation process inside cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 313: 453–8.
- 13) Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, Ohsumi Y: Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: Lessons from yeast. *Nature reviews Molecular cell biology.* 2009; 10: 458–67.
- 14) Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, *et al.*: LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J.* 2000; 19: 5720–8.
- 15) Sasazawa Y, Kanagaki S, Tashiro E, *et al.*: Xanthohumol impairs autophagosome maturation through direct inhibition of valosin-containing protein. *ACS Chem Biol.* 2012; 7: 892–900.
- 16) Tresse E, Salomons FA, Vesa J, *et al.*: VCP/p97 is essential for maturation of ubiquitin-containing autophagosomes and this function is impaired by mutations that cause IBMPFD. *Autophagy.* 2010; 6: 217–27.
- 17) Shikata Y, Yoshimaru T, Komatsu M, *et al.*: Protein kinase A inhibition facilitates the antitumor activity of xanthohumol, a valosin-containing protein inhibitor. *Cancer Sci.* 2017; 108: 785–94.
- 18) Sebolt-Leopold JS, Herrera R: Targeting the

- mitogen-activated protein kinase cascade to treat cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4: 937–47.
- 19) Rinehart J, Adjei AA, Lorusso PM, *et al.*: Multicenter phase II study of the oral MEK inhibitor, CI-1040, in patients with advanced non-small-cell lung, breast, colon, and pancreatic cancer. *J Clin Oncol*. 2004; 22: 4456–62.
- 20) Lorusso PM, Adjei AA, Varterasian M, *et al.*: Phase I and pharmacodynamic study of the oral MEK inhibitor CI-1040 in patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 5281–93.
- 21) Kiga M, Tanzawa F, Iwasaki S, *et al.*: Antitumor effects of novel highly hydrophilic and non-ATP-competitive MEK1/2 inhibitor, SMK-17. *Anticancer Drugs*. 2012; 23: 119–30.
- 22) Wodarz A, Nusse R: Mechanisms of Wnt signaling in development. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1998; 14: 59–88.
- 23) Wasserman HH, Rodgers GC, Keith DD: Metacycloprodigiosin, a tripyrrole pigment from *Streptomyces longisporus ruber*. *J Am Chem Soc*. 1969; 91: 1263–4.
- 24) Ikeda H, Shikata Y, Watanapokasin R, Tashiro E, Imoto M: Metacycloprodigiosin induced cell death selectively in beta-catenin-mutated tumor cells. *J Antibiot (Tokyo)*. 2017; 70: 109–12.
- 25) Shikata Y, Kiga M, Futamura Y, *et al.*: Mitochondrial uncoupler exerts a synthetic lethal effect against beta-catenin mutant tumor cells. *Cancer Sci*. 2017; 108: 772–84.

Searching for the compounds as antitumor drug-seed from microbial origin

Masaya Imoto

Keio University

Despite the dramatic progress of cancer research, cancer is a major cause of death in Japan, and development of effective therapeutic drugs is still needed. In recent years, molecular targeted therapeutic drugs targeting genes involved in cancer onset have greatly contributed to cancer treatment. In developing this molecular targeted drug, how to search for new drug target molecules and how to efficiently obtain the lead compound becomes a problem. Natural products have made a great contribution to the development of pharmaceutical development so far, accounting for about 60% of medicines approved in the past 30 years. Meanwhile, in recent years, the mainstream of drug development has shifted to synthetic compounds, and natural product screening tends to shrink. However, natural products are overwhelmingly dominant in terms of “structural diversity” and “Bioactive diversity” compared to synthetic compounds, therefore, natural products still have sufficient potential as a drug seed. We therefore conducted natural product screening in microorganisms to obtain the compounds that function as antitumor drug-seed. In this article, we describe the studies on the antitumor drug-seed from the microbial secondary metabolites we isolated.