

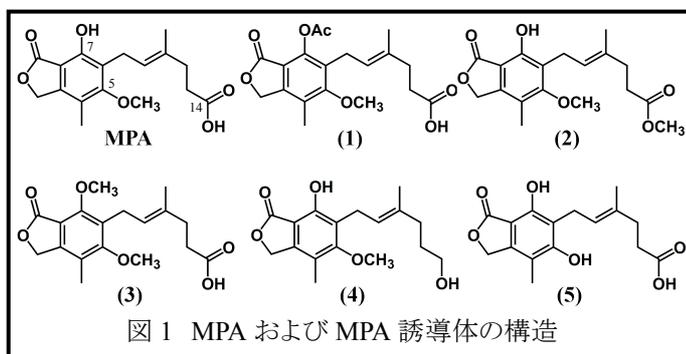
ミコフェノール酸誘導体の IMPDH 阻害活性と分化誘導活性

生命分子化学講座 木質生命化学分野
竹中 淳一

【背景と目的】ミコフェノール酸(mycophenolic acid, **MPA**)は 1896 年にアオカビの一種から単離された化合物であり、現在そのエステル誘導体(CellCept[®])は腎臓、心臓、肝臓移植時の免疫抑制剤として用いられている。MPA は細胞内の核酸合成に関わる酵素、IMP 脱水素酵素(**IMPDH**)を阻害し、免疫抑制活性や細胞分化誘導活性を示すと考えられている。本研究では、MPA の MPA 及び 5 種の MPA 誘導体(図 1)を用いて細胞・分子レベルでの活性評価を行い、MPA の構造活性相関を検討した。

【方法】MPA 誘導体の活性評価には、*o*-dianisidine 染色によるヒト白血病 K562 細胞の分化度定量、リコンビナント IMPDH による酵素阻害活性測定、IMPDH ゲルシフトアッセイ・ウェスタンブロットによる細胞内酵素阻害活性測定を用いた。

【結果】K562 細胞分化誘導活性測定では 7-*O*-acetyl MPA (**1**)と MPA methyl ester (**2**)が 0.25 μ M MPA と比較して 3 倍程度の



濃度(0.5–1 μ M)で MPA と同程度の活性を示した。他の誘導体では 0.25 μ M MPA と比較して 20 倍以上の高濃度で活性があるか、あるいはまったく活性が見られなかった(表 1)。リコンビナント IMPDH 阻害活性測定では、酵素反応生成物である XMP を HPLC で分離定量し、酵素反応の IC₅₀(50% 阻害濃度)を求めた。5-*O*-demethyl MPA (**5**)と mycophenolic alcohol (**4**)に関しては高い酵素阻害活性が見られた。一方で、強く細胞分化を誘導した(**1**)や(**2**)に関しては、それぞれ MPA の 443 倍、56 倍という高い IC₅₀ 値を示し、*in vitro* の酵素阻害活性が著しく低下していた(表 2)。MPA の酵素阻害作用による細胞内 IMPDH ゲルシフトアッセイでは、細胞分化誘導活性と同様の傾向を示した。

【考察および結論】これらの結果から、MPA の IMPDH 阻害(酵素親和性)には 7 位フェノール性水酸基が特に強く関わっており、5 位メキシ基や 13 位カルボン酸も影響を与えていることが明らかになった。しかし、どのアッセイにおいても親化合物である MPA 以上の活性を明確に示した誘導体はなく、IMPDH 阻害活性・細胞分化誘導活性に関しては改良の余地が見られなかった。一方で、MPA を IMPDH 以外の標的分子へのリード化合物として用いるためには、IMPDH 阻害活性を抑える必要があるため、7 位水酸基の修飾による活性低下が有効であると示唆される。

表 1
K562 細胞分化誘導濃度
(0.25 μ M MPA と比較)

(1)	0.75 μ M
(2)	0.75 μ M
(3)	> 32 μ M
(4)	6 μ M
(5)	16 μ M

表 2
IMPDH 50% 阻害濃度
(IC₅₀)

MPA	10.8 nM
(1)	4.78 μ M
(2)	605 nM
(3)	45.1 μ M
(4)	364 nM
(5)	113 nM