

有機ビスマス化合物の生物活性と作用機序

井内 勝哉*¹

Bioactivity and Mechanisms of Action of Organobismuth Compounds

Katsuya IUCHI*¹

ABSTRACT : Metals and metal compounds have been used in medicine for several thousand years. Bismuth is an unusual element in terms of its low toxicity and non-carcinogenic nature despite its heavy metal status. Traditionally, inorganic bismuth compounds have been widely used in medicine and veterinary practice. In particular, bismuth compounds have been used in the treatment of various microbial infections. We previously reported that bismuth compounds have anti-proliferative effects on various cancer cell lines. Bi-chlorodibenzo [c,f][1,5] thiabismocine (compound 3), one of these bismuth compounds, induced apoptotic and necrotic cell death via mitochondrial dysfunction in leukemic cells. Compound 3 also inhibited tubulin polymerization in HeLa cells. Several reports have shown that some bismuth compounds have multiple activities against cancer cells. This review summarizes reports of the activity of bismuth compounds in cancer cell lines.

Keywords : organobismuth, cell death, anticancer

(Received ** **, 2017)

1. はじめに

ビスマスは窒素族の元素の中でもっとも希少な金属である。ビスマスは重金属であるにもかかわらずヒ素やアンチモンに比べて低毒性でありかつ発癌性がないことから、医学・獣医学の世界で広く使用されてきた。いくつかの種類のビスマス塩は殺菌剤、収斂薬、消化器官の疾患治療を目的とした薬剤として使用されてきた。特に、人の胃粘膜に存在し胃がんの原因である病原菌ヘリコバクターピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) を根絶するため、ビスマス塩と抗生物質を組み合わせる方法が使用されてきた。消化器官の疾患治療を目指したビスマス化合物の応用研究に加え、無機・有機ビスマス化合物の化学的・生物学的な活性についての基礎研究もおこなわれてきた¹⁾。1990年代からビスマス化学の生物学的な面に着目し、生物活性を高める目的で、様々な構造のビスマス化合物が合成された。そして、感染病治療にとって有用な新しいビスマス化合物の発見・発展につながった。このように

ビスマス化合物の抗菌活性に着目した研究により、効果的な抗菌剤の開発に成功している。一方で、ビスマス化合物の抗がん活性に関する研究はあまりおこなわれておらず、研究報告も限られている。筆者らは、有機ビスマス化合物によって誘導される細胞死や抗がん活性に着目し、これまで研究をおこなってきた。本稿では、これまでに報告されたビスマス化合物の生物活性や筆者らの研究結果について紹介する。また、抗がん剤として臨床応用されている白金化合物やヒ素化合物の作用機序と比較した。

2. 金属化合物を基盤とした抗がん剤

金属化合物を基盤とした抗がん剤開発の歴史は古い。白金化合物が30年以上前からがん治療薬として重要な役割を果たしてきたことは有名である。白金化合物であるシスプラチンは、DNAに結合してがん細胞の増殖を抑制する抗がん剤として、世界中で用いられてきた。しかし、副作用や薬物耐性の観点から、現在までに、白金以外の金属化合物を用いた抗がん剤への応用研究も盛んに

*¹ : 物質生命理工学科助教 (iuchi@st.seikei.ac.jp)

おこなわれた²⁾。再発性の急性前骨髄球性白血病 (APL) に対する治療薬として、亜ヒ酸 (As_2O_3) が日本でも認可されている。 As_2O_3 は、単独療法で治療効果がみられるだけでなく、他の抗がん剤との併用療法でも有効性が示されている³⁾。APLに対する最も一般的な分子標的治療法として、オールトランスレチノイン酸 (ATRA) を用いた分化誘導法がある。ATRAは、APLの患者の90%以上の症例で観察される PML-RARA (ProMyelocytic Leukemia/Retinoic Acid Receptor Alpha) 融合タンパク質に作用することで効果を示す。しかしながら、ATRA単独療法だけでは高頻度に再発する問題が存在する。そこで、新たに As_2O_3 とATRAの併用療法が用いられ、効果を発揮している。興味深い結果として、ATRA単独療法では残存する白血病幹細胞が、 As_2O_3 とATRAの併用療法によって減少する。これらの報告は、白血病幹細胞に対する治療法開発において、金属化合物の併用療法の有用性を示すものである。

3. ヘテロ環有機ビスマス化合物の培養がん細胞に対する影響と作用機序

筆者らは、培養細胞を用いて3種類のヘテロ環有機ビスマス化合物(図1)の抗がん活性について報告した⁴⁾。ヘテロ環有機ビスマス化合物は、特に白血病由来の細胞株の細胞増殖を著しく阻害する。ヒト前骨髄性白血病由来株であるHL-60細胞を用いて、bi-chlorodibenzo [c,f][1,5]thiabisomocine (compound 3)の作用機序を解析した結果、低濃度 (0.22 μM) のヘテロ環有機ビスマス化合物で処理により、典型的なアポトーシスの現象であるDNAラダーや核の断片化が確認された。また、compound 3は、細胞内の活性酸素を上昇させ、ミトコンドリアから細胞質へのシトクロームcの放出、ミトコンドリア膜電位の低下、カスパーゼの活性化を誘導した。これらの結果より、有機ビスマス化合物は、ミトコンドリア損傷を伴ったアポトーシス誘導活性を有することが示唆された。一方で、1 μM 以上のcompound 3処理したHL-60細胞において、カスパーゼ非依存的な細胞死が誘導された。よって、処理した濃度に依存して、誘導される細胞死の種類が異なることが示唆された。

ヘテロ環有機ビスマス化合物の分子標的について解析し、分子標的のひとつとしてチューブリンを同定した⁵⁾。8員環のcompound 3は、ヒト子宮頸がん由来株HeLaに対し、微小管重合を阻害した。そして、細胞周期をM期に停止させ、最終的にアポトーシスを誘導した。また、compound 3は、*in vitro*微小管重合実験においてもチューブ

リン重合を阻害した。さらに、チューブリン内のシステイン残基に結合することが確かめられた。これらの実験結果より、ヘテロ環有機ビスマス化合物はチューブリンに直接結合することで微小管重合を阻害し、細胞周期停止を伴った細胞死を誘導することが示唆された。この効果は、抗がん剤として既に臨床応用されているビンブラスチンやパクリタキセルの作用機序と極めて似ている。

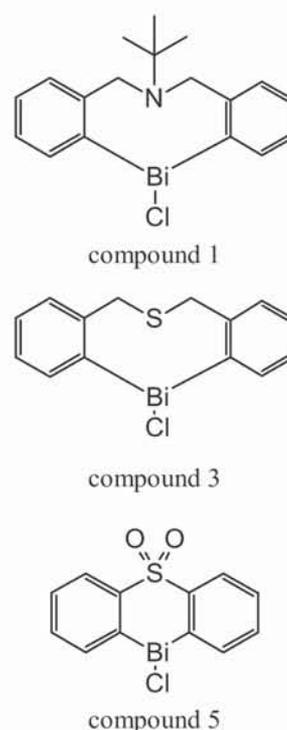


図1 ヘテロ環有機ビスマス化合物の構造

4. その他のビスマス化合物の培養細胞に対する影響

他の有機ビスマス化合物も、ヒト前骨髄性白血病由来株であるNB4細胞に対して強い増殖阻害活性を示す。特に強い増殖阻害を示す有機ビスマス化合物triaryl bismuth dicarboxylate (図2)は、ヘテロ環有機ビスマス化合物と同じように、濃度依存的な細胞周期停止活性とアポトーシスまたはネクロトーシス誘導活性を有した (未発表)。

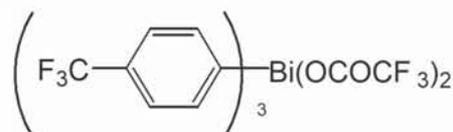


図2 triaryl bismuth dicarboxylateの構造

他のグループによって、いくつかの有機ビスマス化合物の培養細胞に対する影響が確かめられている。tris[2-(*N,N*-dimethylaminomethyl)phenyl]bismuthane (図3a)は、

ウシ大動脈内皮細胞に対して毒性を示すが、ウシ大動脈平滑筋細胞やブタ腎臓上皮細胞(LLC-PK1細胞)には毒性を示さない。また、この化合物はヒト胎児肺繊維芽細胞であるIMR-90細胞にも毒性を示すといった化合物及び細胞の選択性が示されている⁶⁾。

2-acetylpyrazine N(4)-phenylthiosemicarbazone (HL)を構造に持つビスマス化合物[Bi(L)(NO₃)₂(CH₃OH)] (図3c)は、ヒト慢性骨髄性白血病由来株K562に増殖抑制活性を有する(IC₅₀=46.2 μM)⁷⁾。[Bi(HL)(NO₃)₃] (図3d)は、上記の化合物よりもK562細胞に高い毒性を示す(IC₅₀=1.8 μM)⁸⁾。2,6-diacetylpyridine bis(benzoylhydrazone)の誘導体である[Bi(HAcPh)Cl₂] (図3b)は、ヒト白血病T細胞株Jurkat, HL-60, ヒト乳がん由来株MCF-7, ヒト結腸腺がん由来株HCT-116の細胞増殖を抑制する活性を有する(それぞれのIC₅₀=1.29 μM, 0.09 μM, 0.27 μM, 2.83 μM)⁹⁾。

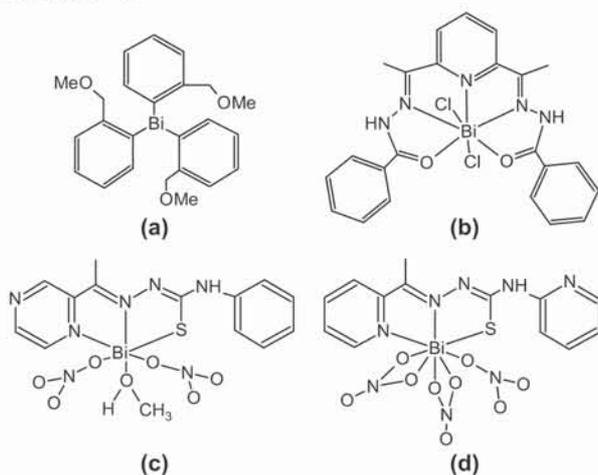


図3 他の有機ビスマス化合物の構造

5. ビスマス化合物とAs₂O₃の作用機序の比較

As₂O₃の作用機序について、培養細胞を用いた研究結果が多く報告されている¹⁰⁾。As₂O₃処理した白血病由来細胞株は、ミトコンドリア損傷やカスパーゼの活性化を伴うアポトーシスが誘導される。細胞内では、活性酸素の増加も確認される。また、カスパーゼ非依存的なネクロトーシスを誘導する¹¹⁾。As₂O₃処理したHeLa細胞は、細胞周期がG₂/M期で停止する¹²⁾。Compound 3処理したヒトがん培養細胞においても、上記で示したように、ミトコンドリア損傷を伴った細胞死や細胞周期停止が生じる。さらに、compound 3処理したNB4細胞において、PML-RARA融合タンパク質の分解も確認している(未発表)。このように、培養細胞のミトコンドリアや細胞周期に対する影響において、As₂O₃と有機ビスマス化合物は同様

の作用を有する。

6. むすび

細胞周期を停止させアポトーシスを誘導する能力を有するヘテロ環有機ビスマス化合物は、抗がん剤としての応用が期待できる。これまでに明らかになったビスマス化合物のもつ生物活性は、As₂O₃の活性と類似している点も多く、APLに対する抗がん剤開発におけるリード化合物の候補となりえる。しかしながら、有機ビスマス化合物を用いた*in vivo*実験や正常細胞に対する報告例は少ない。また、ビスマス化合物の生物学的な活性と化合物の構造との相関性が明確になっていない。今後、構造的違いをもつ多数の有機ビスマス化合物を用いて、さらなる基礎および応用研究が必要である。

参考文献

- 1) Keogan, D.M. and Griffith, D.M. Current and potential applications of bismuth-based drugs. *Molecules*, 2014. 19(9): p. 15258-97.
- 2) Ott, I. and Gust, R. Non platinum metal complexes as anti-cancer drugs. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2007. 340(3): p. 117-26.
- 3) Jing, Y., Combined effect of all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in acute promyelocytic leukemia cells in vitro and in vivo. *Blood*, 2001. 97(1): p. 264-269.
- 4) Iuchi, K., et al., Heterocyclic organobismuth(III) induces apoptosis of human promyelocytic leukemic cells through activation of caspases and mitochondrial perturbation. *Biochem Pharmacol*, 2008. 76(8): p. 974-86.
- 5) Iuchi, K., et al., Heterocyclic organobismuth(III) compound targets tubulin to induce G₂/M arrest in HeLa cells. *J Pharmacol Sci*, 2009. 109(4): p. 573-82.
- 6) Fujiwara, Y., et al., An Organobismuth Compound that Exhibits Selective Cytotoxicity to Vascular Endothelial Cells in Vitro. *Journal of Health Science*, 2005. 51(3): p. 333-340.
- 7) Li, M.X., et al., Synthesis, crystal structures, in vitro biological evaluation of zinc(II) and bismuth(III) complexes of 2-acetylpyrazine N(4)-phenylthiosemicarbazone. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012. 22(7): p. 2418-23.
- 8) Li, M., et al., One dodecahedral bismuth(III) complex derived from 2-acetylpyridine N(4)-

pyridylthiosemicarbazone: synthesis, crystal structure and biological evaluation. *Dalton Trans*, 2012. 41(41): p. 12882-7.

- 9) Ferraz, K.S., et al., Investigation on the pharmacological profile of 2,6-diacetylpyridine bis(benzoylhydrazone) derivatives and their antimony(III) and bismuth(III) complexes. *Eur J Med Chem*, 2012. 53: p. 98-106.
- 10) Miller, W.H., Jr., et al., Mechanisms of action of arsenic trioxide. *Cancer Res*, 2002. 62(14): p. 3893-903.
- 11) Scholz, C., et al., Arsenic trioxide triggers a regulated form of caspase-independent necrotic cell death via the mitochondrial death pathway. *Oncogene*, 2005. 24(11): p. 1904-13.
- 12) Huang, S.C. and Lee, T.C., Arsenite inhibits mitotic division and perturbs spindle dynamics in HeLa S3 cells. *Carcinogenesis*, 1998. 19(5): p. 889-96.