

## 自己評価報告書

平成23年3月31日現在

機関番号：32612

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20113008

研究課題名（和文） ケミカルバイオロジーによる細胞内物流システムの理解と制御

研究課題名（英文） Analysis of intracellular logistics by chemical biology

## 研究代表者

清水 史郎 (SIMIZU SIRO)

慶應義塾大学・理工学部・講師

研究者番号：30312268

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：ケミカルバイオロジー、化合物アレイ、化合物バンク、Pirin、がん細胞遊走

## 1. 研究計画の概要

本研究では、細胞内のタンパク質輸送に関与する様々な生物現象を、ケミカルバイオロジーの手法で解析・制御することを目的としている。目的タンパク質に相互作用する化合物を「化合物アレイ」でスクリーニングするとともに、溶液にした状態で化合物を配布し、各研究者の実験に使用する。細胞内のタンパク質輸送の異常が多く疾患に関与していることから、本研究で得られる化合物が、将来、創薬シードとなる可能性が考えられる。

さらに、本研究代表者は、がんの転移に関与する因子に着目し翻訳後修飾の解析や阻害剤の探索を行う。

## 2. 研究の進捗状況

従来、化合物アレイでの解析には精製したタンパク質を調整する必要があり、スクリーニングする上で大きな障壁となっていた。しかし、本研究代表者は目的タンパク質を赤色蛍光タンパク質と融合した形で哺乳類細胞に発現させ、その細胞抽出物を使ってスクリーニングできる系の構築をまず行った。

次に、この系を用いて、当領域内の研究者から化合物アレイでの解析の依頼を十数のタンパク質について受けており、その中のいくつかのタンパク質においてはヒット化合物が得られた。また、溶液も複数の研究者に配布しており、現在、解析が進められている。

一方、本研究代表者は、がんの悪性度に着目し、その阻害剤探索を行った。その結果、がん遺伝子産物 Bcl-3 と相互作用することが知られている Pirin の阻害剤を世界で初めて同定することに成功した。TPh A と命名した Pirin 阻害剤は、Pirin との共結晶を取ることができ、詳細な相互作用の様子が確かめられた。

さらに、TPh A は *in vitro* において Pirin と Bcl-3 の相互作用を阻害することが確かめられた。

Pirin は Bcl-3 との結合が知られていたが、細胞での詳細な役割は不明であった。TPh A を用いて細胞の表現型に与える影響を種々検討した結果、TPh A には細胞の増殖抑制効果はなく、メラノーマ細胞の遊走を阻害することが分かった。また、その機構として TPh A をメラノーマ細胞に処理することで、Pirin と Bcl-3 の相互作用が阻害され、その結果、Snail2 の発現が低下することが遊走能阻害の原因であることが明らかになった。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 初年度に細胞の抽出物を用いた化合物アレイのスクリーニング系構築に成功したために、領域内から多くの依頼タンパク質の解析が可能になった。さらに、Pirin 阻害剤の取得に世界で初めて成功し、細胞内での Pirin の役割を明らかにすることができた。化合物アレイは、物理的相互作用でスクリーニングするため、機能未知のタンパク質の阻害剤を取得し、得られた化合物を用いることでそのタンパク質の機能解析ができることを証明することができたため。

## 4. 今後の研究の推進方策

研究成果が着実に出ていることから、今後もこれまでと同様に実験を遂行する。具体的には、研究領域の中の計画班員と公募班員に化合物を提供するとともに、目的タンパク質と特異的に相互作用する化合物の取得を、化合物アレイを用いてスクリーニングを継続する。また、がんの悪性化に関与するタンパク質の解析を並行させる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

1. Khan, M. G. M., Simizu, S., Lai, N. S., Kawatani, M., Shimizu, T. & Osada, H. Discovery of a small molecule PDI inhibitor that inhibits reduction of HIV-1 envelope glycoprotein gp120. **ACS Chem. Biol.** 6, 245-251 (2011) 査読有
2. Miyazaki, I., Simizu, S., Okumura, H., Takagi, S. & Osada, H. A small-molecule inhibitor shows that pirin regulates migration of melanoma cells. **Nature Chem. Biol.** 6, 667-673 (2010) 査読有
3. Miyazaki, I., Okumura, H., Simizu, S., Takahashi, Y., Kanoh, N., Muraoka, Y., Nonomura, Y. & Osada, H. Structure-affinity relationship study of bleomycins and Shble protein by use of a chemical array. **ChemBioChem** 10, 845-852 (2009) 査読有
4. Takagi, S., Simizu, S. & Osada, H. RECK negatively regulates matrix metalloproteinase-9 transcription. **Cancer Res.** 69, 1502-1508 (2009) 査読有
5. Miyazaki, I., Simizu, S., Ichimiya, H., Kawatani, M. & Osada, H. Robust and systematic drug screening method using chemical arrays and the protein library: identification of novel inhibitors of carbonic anhydrase II. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 72, 2739-2749 (2008) 査読有

[学会発表] (計 18 件)

1. 清水史郎、長田裕之「化合物アレイを用いたタンパク質阻害剤の網羅的探索」日本薬学会第 131 回年会、2011 年 3 月 29 日、静岡
2. 清水史郎「Pirin によるメラノーマ細胞の遊走制御と阻害剤探索」第 19 回日本がん転移学会学術集会、2010 年 6 月 16 日、金沢
3. 清水史郎、宮崎功、長田裕之「化合物アレイを使用した抗がん剤のスクリーニング法」第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 1 日、横浜
4. 清水史郎、宮崎功、長田裕之「最先端創薬システム：分子標的治療薬開発のためのケミカルバイオロジー」第 13 回日本がん分子標的治療学会学術集会、2009 年 6 月 25 日、徳島
5. Simizu, S., Miyazaki, I. & Osada, H. “Establishment of novel antitumor drugs screening method by using chemical array” AACR-ACS Joint Conference on Chemistry in Cancer Research、2009 年 2 月 9 日、アメリカ・

ニューオリンズ

[図書] (計 2 件)

1. 清水史郎、宮崎功、本田香織、近藤恭光、長田裕之：金芳堂「がん分子標的治療研究ハンドブック」64-69(2009)
2. 清水史郎、長田裕之：南山堂「がんの分子標的治療」209-214(2008)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.applc.keio.ac.jp/~umezawa/>