

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：32689

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02100

研究課題名(和文)細胞分化を調節する低分子化合物の探索

研究課題名(英文) Search for small molecules controlling cell differentiation

研究代表者

中尾 洋一 (NAKAO, YOICHI)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：60282696

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,890,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、発生期の分化途上にある多様な細胞種間の相互作用について、ES細胞から誘導した前駆細胞を使った複数の分化誘導系を組み合わせた3次元培養系を構築して、細胞分化に影響を及ぼす化合物の探索を行うとともに、それら化合物が各分化過程に及ぼす影響を多面的に解析した。本研究を通して、マウスES細胞から誘導したFlk1+細胞(心血管系前駆細胞)および神経幹細胞を用いて、複合的3次元(オーガノイド)培養系の条件検討を行い、アッセイ系として構築した。食品抽出物ライブラリー(96サンプル)について、本系を用いたスクリーニングを行い、分化促進活性が認められた48食品サンプルから活性本体の精製を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、一般的に摂取されている食品中に非常に強い血管および心筋分化誘導活性を見出している(特許申請準備中)。この発見は、普段の食事のとり方によって血管系の若さを保持するためのヒントとなりうるため、活性本体を明らかにすることで社会的に大きなインパクトを与えうる研究成果となりうる。

研究成果の概要(英文)：In this research project, 3D culture system monitoring multiple cell differentiation pathways has been established. Screening for bioactive food ingredients using this system has been conducted. As the result, 48 out of 96 food samples showed some kinds of activities. The most active food sample was selected for further study to isolate active substances. The isolation is at the final step currently. Structure elucidation of the bioactive substances will be conducted in the nearest future.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：幹細胞分化調節 天然化合物

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

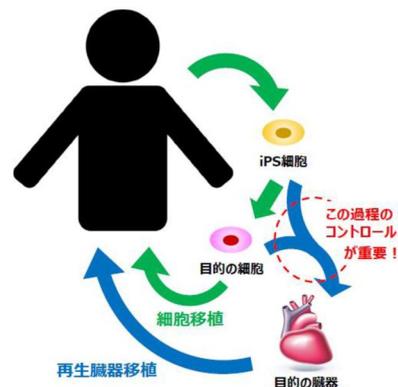
### 1. 研究開始当初の背景

iPS細胞の開発によって幹細胞分化に関する理解が急速に深まり、幹細胞を用いた網膜や心筋などの再生医療が現実味を増しつつあった。また、患者から樹立された iPS 細胞 (疾患特異的 iPS 細胞) を用いる難治性疾患の病態解析、創薬、治療法開発などへの応用により、これまで難治とされてきた多くの疾患に対しても新たな治療法が見つかることが期待されていた。

このようにある特定の細胞へと分化誘導した細胞を移植する再生医療は実現に向けて着実な進捗を示す一方、より効果的な再生医療として、複雑な構造を持つ立体的な臓器・組織の再生と移植が次の目標として注目されつつあった。

### 2. 研究の目的

臓器に代表される生体内組織は多様な細胞から成り立ち、それぞれの細胞が協働することでその機能を発揮している。生体組織の機能を再生するには、その組織を構成する各細胞間の相互作用を理解したうえで組織デザインを行う必要性があった。しかしながら、生来のプログラムに従う組織形成期における細胞間の相互作用ネットワークは未解明であった。このネットワークを理解するには、ある特定の細胞への分化が周囲の細胞分化へおよぼす影響をも多面的に解析する必要が生じるため、研究の複雑性が著しく増大する。このため、複雑な細胞間相互作用が組織形成におよぼす影響を、どうやってシンプルに解析し、理解できるか? を目的として本研究を遂行した。



### 3. 研究の方法

本研究では発生期の分化途上にある多様な細胞種間の“複雑化した”相互作用について“シンプルに”理解することを目的とし、複数の幹細胞分化系を組み合わせ、シンプルな組織形成モデル系 (複合的 in vitro 細胞分化系: いわゆるオーガノイド) を構築し、特徴的な表現型変化を引き起こす天然小分子の探索を行った。

われわれの研究室では ES/iPS 細胞から心・血管系細胞への分化誘導系と神経細胞への分化誘導系を用いて、細胞分化調節を有する天然小分子の探索研究を実施してきた。このうち、心・血管系細胞への分化誘導系では、ES/iPS 細胞から誘導した Flk1+細胞を前駆細胞として血管内皮細胞、周皮細胞、リンパ管内皮細胞、および心筋細胞などを選択的に分化誘導可能であるとともに、Flk1+細胞からスフィア (細胞塊) 形成を行って 3 次元培養することで、血管・血球を含む血管系を再構築可能である。また、神経細胞への分化誘導系では、ES 細胞のスフィアから誘導した神経幹細胞 (NSC: Neural Stem Cells) を用いて、アストロサイトおよびニューロンへと選択的に分化誘導が可能である。



以上 2 種類の細胞分化誘導系からは各分化段階にある細胞を任意に取り出せるため、取り出した各分化段階にある細胞同士を混合する 2 次元共培養や、スフィアを形成させて 3 次元共培養する複合的 in vitro 細胞分化系によって、生体内における複雑な発生過程の一部を切り取ることが可能となる。そこで、この 2 種類の細胞分化系を組み合わせ、複雑な組織形成過程を単純化し、細胞間相互作用を観察可能となるモデルの構築を行った。

本複合的 in vitro 細胞分化系を用いることで、直接細胞分化に影響を与える化合物を幅広く探索した。一方、並行した研究で心筋細胞、血管内皮細胞、ニューロン、アストロサイトなどへの選択的分化効率を調節する天然小分子ライブラリーを見出している。これらは、複合的 in vitro 細胞分化系において細胞間相互作用をコントロールし、より高度な機能を持った組織形成を誘導する可能性が高い貴重な低分子化合物群といえる。

### 4. 研究成果

本研究では、発生期の分化途上にある多様な細胞種間の相互作用について、ES 細胞から誘導した前駆細胞を使った複数の分化誘導系を組み合わせ、3 次元培養系を構築して、細胞分化に影響を及ぼす化合物の探索を行うとともに、それら化合物が各分化過程に及ぼす影響を多面的に解析した。

2018 年度の研究を通して、マウス ES 細胞から誘導した Flk1+細胞 (心血管系前駆細胞) および神経幹細胞を用いて、単独または複合的 3 次元培養系の条件検討を行った。また、本複合的 3 次元培養系を用いた化合物の活性評価系について、小分子の投与タイミング、投与方法などについての条件検討も行った。

2019 年度は、研究室保有の食品抽出物ライブラリー (96 サンプル) について、複合的 3 次元培養系によるスクリーニングをおこないヒットサンプルを確認した。

2020年度は、2018および2019年度の研究を通して構築した3次元培養系による食品サンプルのスクリーニングを行った結果、48サンプルに血管・アストロサイトへの分化促進活性を認め、3サンプルについてはさらに心筋への分化促進活性を確認した。そこで、血管・心筋・アストロサイトそれぞれへの分化活性を示した食品サンプルを選び、活性本体の精製を試みた。現時点で精製の最終段階にあるが活性本体の同定には至っていない。今後これらの活性本体の構造を明らかにする予定である。

以上と並行して、細胞分化機構に深くかかわる可能性のある天然化合物の探索を行い、多くの活性化化合物を得ている。今後は、これらについても本研究で構築したアッセイ系を用いた活性の評価を行い、作用メカニズム解析を通して細胞分化調節機構を解明し、医薬品やサプリメント開発に貢献したいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 2. Hayashi-Takanaka, Y.; Kina Y.; Nakamura. F.; Yamazaki, S.; Harata, M.; van Soest, R. W. M.; Kimura, H.; Nakao, Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Effect of mycalolides isolated from a marine sponge Mycale aff. nullarosette on actin in living cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-44036-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakamura Kayo, Tsubokura Kazuki, Kurbangalieva Almira, Nakao Yoichi, Murase Takefumi, Shimoda Taiji, Tanaka Katsunori	4. 巻 38
2. 論文標題 Efficient route to RIKEN click probes for glycoconjugation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Carbohydrate Chemistry	6. 最初と最後の頁 127 ~ 138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/07328303.2019.1578886	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Machida Koshi, Arai Daisuke, Katsumata Ryosuke, Otsuka Satoshi, Yamashita Jun K., Ye Tao, Tang Shoubin, Fusetani Nobuhiro, Nakao Yoichi	4. 巻 26
2. 論文標題 Sameuramide A, a new cyclic depsipeptide isolated from an ascidian of the family Didemnidae	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 3852 ~ 3857
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bmc.2018.06.042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakamura Fumiaki, Maejima Hiroshi, Kawamura Midori, Arai Daisuke, Okino Tatsufumi, Zhao Meng, Ye Tao, Lee Jungyeol, Chang Young-Tae, Fusetani Nobuhiro, Nakao Yoichi	4. 巻 28
2. 論文標題 Kakeromamide A, a new cyclic pentapeptide inducing astrocyte differentiation isolated from the marine cyanobacterium Moorea bouillonii	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 2206 ~ 2209
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bmcl.2018.04.067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Karino, Y.; Nakao Y.
2. 発表標題 Search for bioactive substances from Shiitake mushrooms ( <i>Lentinula edodes</i> )
3. 学会等名 AFPS-ICAPPS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ikeda, K.; Arai, D.; Machida, K.; Hayashi-Takanaka, Y.; Kimura, H.; Fusetani, N.; Nakao Y.
2. 発表標題 Marine Natural Products that Control a Specific Set of Histone Modifications
3. 学会等名 XVI MaNaPro_XI ECMNP (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamihira, R.; Nakao Y.
2. 発表標題 Preparation of Chemical Probes from Marine Natural Products
3. 学会等名 XVI MaNaPro_XI ECMNP (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakamura, F.; Nakao Y.
2. 発表標題 Search for Marine Natural Products from the Mixtures of Marine Invertebrates in the Twilight Zone
3. 学会等名 XVI MaNaPro_XI ECMNP (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中尾洋一
2. 発表標題 ココア主要成分テオブロミンの新たな生理作用
3. 学会等名 第24回 チョコレート・ココア国際栄養シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Machida, K.; Arai, D.; Katsuata, R.; Otsuka, S.; Yamashita, J. K.; Ye, T.; Tang, S.; Fusetani, N.; Nakao, Y.
2. 発表標題 Sameuramide A, a new cyclic depsipeptide isolated from an ascidian of the family Didemnidae
3. 学会等名 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (ISCNP30 & ICOB10) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kamihira, R.; Arai, D.; Nakao, Y.
2. 発表標題 Preparation of chemical probes from marine cyclic peptides
3. 学会等名 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (ISCNP30 & ICOB10) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakamura, F.; Mejima, H.; Kawamura, M.; Arai, D.; Zhao, M.; Ye, T.; Fusetani, N.; Nakao, Y.
2. 発表標題 Kakeromamide A, a new cyclic pentapeptide from the marine cyanobacterium <i>Moorea bouilonii</i>
3. 学会等名 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (ISCNP30 & ICOB10) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤紗季、中尾洋一
2. 発表標題 鹿児島県産海綿からの神経分化調節化合物の探索
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 狩野有花、中尾洋一
2. 発表標題 シイタケ由来の生物活性化合物の探索
3. 学会等名 日本化学会大99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村文彬、中尾洋一
2. 発表標題 ドレッジ採集した深海性の生物小断片混合物に着目した海洋天然化合物の探索
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuki Tsubokura, Kenward Vong, Peni Ahmadi, Yoichi Nakao, Katsunori Tanaka
2. 発表標題 Inhibition of Tumor Metastasis and Proliferation by in vivo Metal-Catalyzed Reaction
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪倉一輝、Kenward Vong、Ambara Pradipta、中尾洋一、田中克典
2. 発表標題 生体内合成化学治療 生理活性天然物のルネッサンス
3. 学会等名 第60回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平沢元希、池田昂太郎、新井大祐、中尾洋一
2. 発表標題 ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株MB-1に対する海洋天然化合物の活性評価
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤野修太郎、新井大祐、木村宏、中尾洋一
2. 発表標題 Mycale属海綿に含まれるmycalolide類の単離と構造決定
3. 学会等名 第8回CSJ化学フェスタ2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 池田昂太郎、新井大祐、木村宏、中尾洋一
2. 発表標題 ヒストン修飾調節活性を示す海洋天然化合物の探索
3. 学会等名 第8回CSJ化学フェスタ2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村文彬、原口敦嗣、阿部慎太郎、柴田重信、中尾洋一
2. 発表標題 遠志に含まれる時計遺伝子Per2の発現周期調節成分の探索
3. 学会等名 第13回化学生態学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤駿、万場昌子、菅沼啓輔、中尾洋一
2. 発表標題 抗トリパノソーマ活性を有する海洋天然化合物
3. 学会等名 第13回化学生態学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤駿、万場昌子、菅沼啓輔、中尾洋一
2. 発表標題 抗トリパノソーマ活性を有する海洋天然化合物の探索
3. 学会等名 第13回日本ケミカルバイオロジー学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村文彬、田中万結、新井大祐、木村宏、中尾洋一
2. 発表標題 ヒストン修飾調節活性を有する海洋天然化合物の探索
3. 学会等名 第13回日本ケミカルバイオロジー学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 町田光史、勝俣良祐、新井大祐、中尾洋一
2. 発表標題 宮城県産ホヤDidemnidae sp.から得られた新規環状デプシペプチドに関する研究
3. 学会等名 第13回日本ケミカルバイオロジー学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉崎未来、新井大祐、菅敏幸、木村宏、中尾洋一
2. 発表標題 シークワサー果皮に含まれるヒストン修飾調節活性成分の探索
3. 学会等名 第12回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長島侑希、新井大祐、木村宏、中尾洋一
2. 発表標題 コーヒー由来のヒストン修飾調節活性および神経幹細胞分化調節活性を有する化合物の探索
3. 学会等名 第12回日本エピジェネティクス研究会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	山下 潤  (YAMASHITA Jun)  (50335288)	京都大学・その他部局等・教授    (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	田中 克典  (TANAKA Katsunori)  (00403098)	国立研究開発法人理化学研究所・その他部局等・主任研究員    (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関