

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：41501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791649

研究課題名（和文）コチレニンAによる網膜分化、抗腫瘍および神経保護の可能性の追求

研究課題名（英文）Research of Cotylenin A functions in retinoblastoma cells

研究代表者

柏木 佳子（KASHIWAGI YOSHIKO）

山形県立米沢女子短期大学・その他部局等・助手

研究者番号：90375345

研究成果の概要（和文）：我々は、真菌由来ジテルペノイド化合物・コチレニンAが、網膜芽細胞腫細胞に対して、細胞増殖抑制やアポトーシス誘導性を持つこと、さらに腫瘍の性質を変化させて網膜分化を誘導する可能性を見出した。一方で、ラット網膜視神経節細胞株（RGC5）においてコチレニンA投与によって神経栄養因子の mRNA・タンパク質発現に変化が見られなかった。コチレニンAには強い神経保護誘導作用がない可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：We found that Cotylenin A is a potent inhibitor of cell proliferation and apoptosis, and it changes tumor characteristics in retinoblastoma cell lines. Differences in the effect of Cotylenin A on ocular retinoblastoma tumors and metastatic tumours were observed. However, we could not detect the function of nerves protection in rat retina ganglion cells (RGC5).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：コチレニンA、網膜芽細胞腫、神経節細胞、抗腫瘍、神経保護

1. 研究開始当初の背景

網膜芽細胞腫は、乳幼児に発症する眼内悪性腫瘍であり、発生頻度が高く、日本では約15,000人に1人の割合で発生する。現在、治療法の進歩により救命率はきわめて高いが、視力を保持することは困難である。コチレニン（CN-A）は真菌から植物成長調節物質として見出され（Nature 227:379, 1970）、植物H⁺-ATPアーゼの持続的活性化作用を示すことが知られている。コチレニンAは、白血病患者由来のヒト骨髄性白血病細胞株（HL-60）

を単球に分化させる（Br J Haematol. 112:697-705, 2001）。また、乳癌細胞（MCF-7）では、ラパマイシンとコチレニンAを共投与すると細胞の増殖が抑制され（Breast Cancer Res. 7:1097-1110, 2005）、卵巣腫瘍細胞や肺癌細胞においても、インターフェロン- α とコチレニンAを共投与すると細胞増殖能が抑制されることが知られている（Gynecol Oncol. 99: 680-688, 2005, Cancer Res. 63:3659-3666, 2003）。これらの報告から、コチレニンAは腫瘍細胞の細胞増

殖を制御し、さらに分化誘導を促す作用があるのではないかと考えられた。

2. 研究の目的

網膜芽細胞腫は、乳幼児期に発症する眼内悪性腫瘍であり、現在は治療法の進歩により救命率は高いが、視野機能の保持、回復までには到っていない。我々は、白血病細胞を骨髄単球へ分化誘導し、胃・卵巣・乳癌腫瘍の細胞増殖を抑制するコチレニンAが、網膜芽細胞腫を脱腫瘍化させ視細胞へと分化誘導させる可能性を見出した。本研究では、網膜芽細胞腫細胞株を用いて網膜芽細胞腫におけるコチレニンAの作用をさらに解明し、腫瘍の分化誘導を利用した新規治療法の可能性を探求したい。また、申請者のこれまでの実験結果を踏まえ、コチレニンAの網膜視神経節細胞における神経保護作用と、人工多能性幹細胞における作用を解明したい。

3. 研究の方法

3つの細胞株を用いて、疾患治療と再生治療におけるコチレニンA作用の有用性を探索したい。網膜芽細胞腫細胞株におけるコチレニンAの視細胞分化誘導作用、脱腫瘍化作用、神経保護作用を探索する。また、日本で失明原因の第一位疾患・緑内障の研究ツールである、網膜神経節細胞株を用いて、コチレニンAの神経保護作用の可能性を探求する。さらに、コチレニンAが網膜再生治療に有用かを人工多能性幹細胞(iPS)によって検討し、眼の再生治療の可能性を探求したい。

4. 研究成果

我々はこれまで、真菌由来ジテルペノイド化合物であるコチレニンAが、網膜芽細胞腫細胞株 Y-79・WERI-Rb-1 細胞に対して、細胞増殖抑制およびアポトーシスを誘導すること、網膜発生時に発現する PAX6 遺伝子や視細胞特異的に発現する Rhodopsin 遺伝子の mRNA の発現を誘導することを明らかにし、コチレニンAが網膜芽細胞腫に対して腫瘍の性質を変化させて網膜分化を誘導する可能性を見出した。また、Y-79 と WERI-Rb-1 細胞において、コチレニンAによって、網膜発達に関与する PAX6 のスプライスバリエント(5a) mRNA は誘導されず、正常な PAX6 mRNA の転写が活性化されることを明らかにした。一方で、WERI-Rb-1 においてのみ、コチレニンAは PAX6 のエクソン3と4の間に存在するプロモーターを活性化し、エクソン5が欠損したスプライスバリエント PAX6(Δ exon5) mRNA を誘導することを明らかにした。さらに、コチレニンAは、網膜芽細胞腫細胞株に対してヒストン脱アセチル化阻害作用は持たないことを明らかにした。これらをまとめて Molecular Vision に報告した。

一方で、ラット網膜視神経節細胞株(RGC5)にコチレニンAを投与し、神経保護をにんう神経栄養因子(NGF, GDNF, BDNF)の mRNA・タンパク質が誘導されるかを PCR 法、Western Blot 法にて発現解析したところ、コチレニンA投与によって神経栄養因子の mRNA・タンパク質発現に変化が見られなかった。また、ヒト人工多能性幹細胞(iPS)にコチレニンAを投与し、発達を担う転写因子群が投与初期に制御されているかを、PCR アレイ法を用いて発現解析したが、発達を担う転写因子群の遺伝子発現に大きな変化は観察されなかった。これらのことから、網膜視神経節細胞や人工多能性細胞において、コチレニンAには強い神経保護誘導作用がない可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

(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1件)

1. Kashiwagi Y, Kato N, Sassa T, Nishitsuka K, Yamamoto T, Takamura H, Yamashita H. Cotylenin A inhibits cell proliferation and induces apoptosis and PAX6 mRNA transcripts in retinoblastoma cell lines. Molecular Vision 2010, 16:970-982 (査読有)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏木 佳子 (KASHIWAGI YOSHIKO)
山形県立米沢女子短期大学・その他部局等・助手
研究者番号：90375345

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし