

令和 6 年 5 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11740

研究課題名（和文）脂質ラフトを標的としたがん・神経変性抑制の分子基盤と予防的治療への応用

研究課題名（英文）Molecular basis of lipid raft-targeted suppression of cancer and neurodegeneration and its application to preventive therapy

研究代表者

村井 稔幸（Murai, Toshiyuki）

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：20311756

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：細胞膜上では、「脂質ラフト」または「膜ラフト」と呼ばれる脂質やタンパク質の集合体によって構成される微小な膜ドメインが形成され、細胞内外の情報交換などの機能を担うと考えられている。脂質ラフトは、がん細胞の接着・浸潤や神経変性疾患などにおいて重要な役割を果たしており、治療の新たな標的となる可能性がある。本研究では、脂質膜ドメインを標的とし、がん・神経変性疾患に対して抑制的に作用する物質を同定し、その分子基盤を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会に向け、がんやアルツハイマー病などの神経変性疾患の克服が喫緊の課題である。しかし、がんの予防的治療法は確立されていない。神経変性疾患の治療は対症療法にとどまり、進行抑制効果のある根治療法は存在しない。よって、これらの予防・治療法の開発が重要課題となっている。本研究は、脂質ラフトの役割を解明するための膜活性化化合物の開発と、それを用いたがん・神経変性疾患についての予防的治療法の確立に向けた基礎的知見を提供する。

研究成果の概要（英文）：Plasma membrane of biological cells is organized via the assembly of lipid mesoscopic domains, called as “lipid rafts” or “membrane rafts.” Lipid rafts play key roles in the adhesion and invasion of cancer cells and neurodegenerative diseases, and may serve as new therapeutic targets. In this study, we identified compounds, that suppress cancer and neurodegenerative diseases, as membrane-active agents. This study provides a basis for the use of the membrane-active compounds to elucidate the roles of lipid rafts and development of novel membrane lipid-based therapies.

研究分野：生化学

キーワード：細胞・組織 シグナル伝達 分子認識 脂質ラフト

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞膜上では、「脂質ラフト」または「膜ラフト」と呼ばれる脂質やタンパク質の集合体によって構成される微小な膜ドメインが形成され、細胞内外の情報交換などの機能を担うと考えられている。脂質ラフトは、がん細胞の接着・浸潤や神経変性疾患などにおいて重要な役割を果たしており、治療の新たな標的となる可能性がある。

これらの膜ドメインでは、コレステロールとスフィンゴ脂質が充填され、周囲の液体無秩序相内に秩序相を形成しており、細胞膜の機能において重要な役割を果たしている。特に、脂質ラフトは、がん細胞の運動に関与する1回膜貫通型細胞接着受容体 CD44 の細胞表面でのタンパク質分解・切断、可溶性 CD44 の培地への放出に関与している。細胞間および細胞と細胞外マトリックスの接着はがん進展にとって重要であるため、脂質ラフトを標的とする薬剤の開発はがん治療の効果的な戦略となる可能性がある。

2. 研究の目的

超高齢化社会に向け、がんやアルツハイマー病などの神経変性疾患の克服が喫緊の課題である。しかし、がんの予防的治療法は確立されていない。神経変性疾患の治療は対症療法にとどまり、進行抑制効果のある根治療法は存在しない。よって、これらの予防・治療法の開発が重要課題となっている。本研究は、脂質ラフトの役割を解明するための膜活性化化合物の開発と、それを用いたがん・神経変性疾患についての予防的治療法の確立に向けた基礎的知見を提供することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) クルクミン類

クルクミンはウコンに含まれるポリフェノール化合物であり、米国食品医薬品局によって安全な食品添加物として認められている。クルクミンは様々な生物学的活性を示し、がんや神経変性疾患に効果が認められたとする報告があるが、そのメカニズムは依然として不明であった。クルクミンは、様々な細胞内シグナル伝達経路を介して、構造的に無関係なくいくつかの膜タンパク質の機能に影響を与える。また、その蛍光特性により生化学アッセイを光学的に妨害する可能性がある。

本研究では、クルクミンが細胞膜の物理的特性を変化させ、膜タンパク質の機能を間接的に調節する可能性について、図1に示す化合物を用いて下記の方法により検討した。

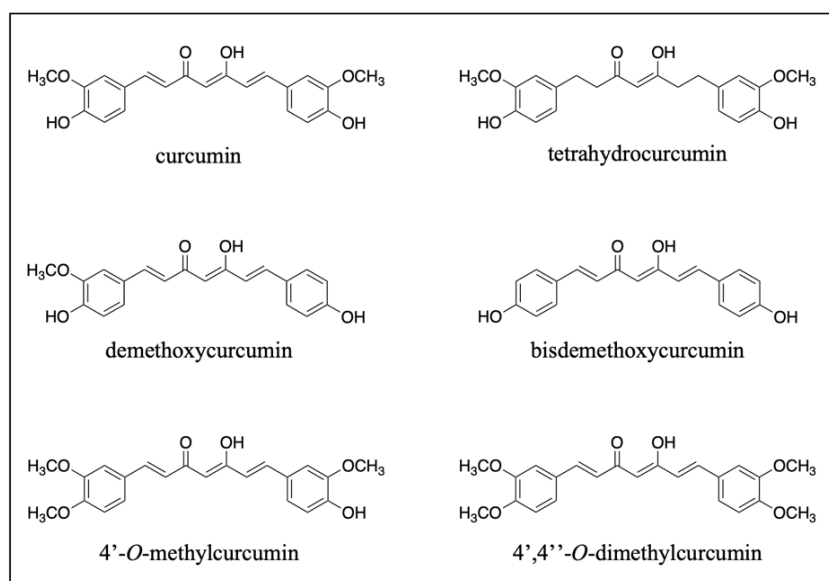


図1. 本研究で用いた化合物

(2) 人工脂質系細胞膜モデルによる評価

1,2-ジオレオイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン、スフィンゴミエリン、およびコレステロールから成る脂質フィルムを調製し、静置水和法により細胞サイズの脂質ベシクル (giant unilamellar vesicle, GUV) を作成し、コレステロール依存性のラフト様マイクロドメインを形成させた。次に、この細胞サイズの GUV を使用して、膜ドメイン形成に対するクルクミンおよびその誘導体の効果を測定した。

(3) 巨大細胞膜ベシクルに対する試験

細胞膜のブレブ形成を介して巨大細胞膜ベシクル (giant plasma membrane vesicle, GPMV) を調製し、その表面に膜ドメインを形成させた。GPMV は生細胞膜の組成を反映するため、細胞膜における脂質二重膜の特性や膜ドメイン解析に有用である。

(4) 細胞に対する試験

膜ラフトを含む界面活性剤不溶性膜画分を Triton X-100 処理細胞ホモジネートのショ糖密度勾配超遠心分離により調製した。これにより細胞における CD44 の脂質ラフトへの分配を評価した。CD44 の細胞表面でのタンパク質分解・切断、可溶性 CD44 の培地への放出を測定した。

4. 研究成果

クルクミンおよび特定の誘導体は、*in vitro*で細胞サイズの GUV を用いた人工脂質系細胞膜モデルにおける膜ドメインの再編成を誘導した。この作用は膜ドメインを標的とし、クルクミン類のメトキシ基が脂質二重膜のドメイン境界に配向挿入される効果であることが推定された。調製した巨大細胞膜ベシクル GPMV は、暗部ドメイン (秩序相) と FAST-DiI の蛍光により標識された複数の明部マイクロドメイン (液体無秩序相) を示した。GPMV に対して、クルクミンおよび特定の誘導体が膜ドメインの再編成を誘導した。非回転性、平面性、両親媒性構造を有するクルクミン誘導体は脂質ドメインの再編成を誘導した。クルクミンおよび特定の誘導体で処理した細胞は、ADAM10 を介した可溶性 CD44 の培地への放出を促進した。

これらの結果により、クルクミンは膜活性化化合物であり、その活性はその平面構造と、2つの芳香環に配置された水酸基およびメトキシ基に依存することが明らかになった。これらの結果は脂質ドメインの再編成には2つの要素が必要であることを示唆する。それらは、剛直で平面的な分子構造と、両親媒性分子構造を形成するための親水基の適切な配向である (図2)。

本研究では、脂質膜ドメインを標的とし、がん・神経変性疾患に対して抑制的に作用する物質を同定し、その分子基盤を明らかにした。クルクミン類は膜活性化効果を介して膜ドメインを調節し、これが膜受容体に対する効果を含む複数の細胞内シグナル伝達経路を介したクルクミン類の多様な効果に影響を及ぼしている可能性がある。脂質ラフトは、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患に関与することが報告されている。したがって、脂質ラフトの役割を解明するための膜活性化化合物の開発を通して、それを用いたがん・神経変性疾患についての予防的治療法の確立に向けた基礎的知見を提供することができる。

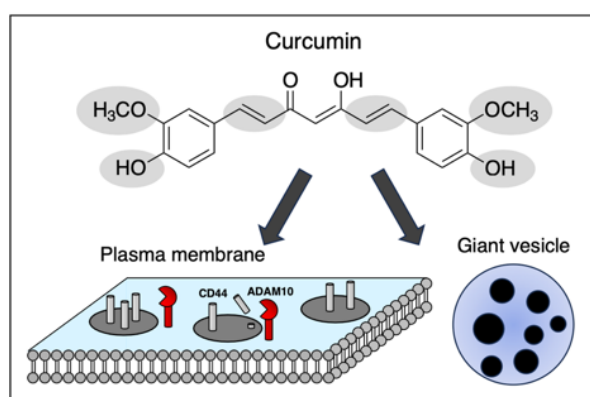


図2. Curcuminおよびその誘導体の膜ドメインへの作用

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Murai T, Kawashima H, Naor D.	4. 巻 10
2. 論文標題 Editorial: Cell-Cell and Cell-Matrix Adhesion in Immunobiology and Cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front. Immunol.	6. 最初と最後の頁 3126
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2019.03126	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 Murai T et al.	4. 巻 63
2. 論文標題 Curcumin Modulates the Membrane Raft Integrity via Phase Separation and Induces CD44 Shedding in Tumor Cells	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 441 - 451
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.biochem.3c00645	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Murai, T. et al. Ed.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Frontiers Media SA	5. 総ページ数 136
3. 書名 Cell-Cell and Cell-Matrix Adhesion in Immunobiology and Cancer	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------