

平成23年5月18日現在

機関番号： 82401
研究種目： 若手研究(B)
研究期間： 2008～2010
課題番号： 20710163
研究課題名（和文）細胞死制御剤を鍵とした細胞死分子機構の解明
研究課題名（英文）Mechanistic Study of Cell Death by Using Cell Death Control Molecules

研究代表者
どど 孝介 (DODO KOSUKE)
独立行政法人理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室・研究員
研究者番号： 20415243

研究成果の概要（和文）：

本研究では多細胞生物の恒常性維持に重要な役割を果たす「細胞死」のメカニズム解明を目指して、「細胞死制御分子」、すなわち細胞死阻害剤ないしは誘導剤の開発とその作用機序解明研究を行った。その結果、いくつかの化合物に関してユニークな細胞死誘導活性を示すことが明らかとなった。さらに、これらの化合物に関してプローブ化を行い、そのターゲット候補としていくつかの結合タンパク質を同定することに成功した。

研究成果の概要（英文）：

Cell death is one of the most important systems for the maintenance of multicellular organisms. In this study, we performed the development and mechanistic study of cell death control molecules, i.e., inhibitors or inducers of cell death. As a result, we obtained some cell death inducers having unique cell death inducing properties. By using these compounds and modified probes, we determined some binding proteins as potent candidates of target molecules.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：

細胞死、アポトーシス、ネクローシス、ケミカルバイオロジー、創薬科学、ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

細胞の死「細胞死」は多細胞生物の恒常性維持において非常に重要な役割を果たしている。細胞死はその形態をもとに大きくアポトーシス、オートファジー、ネクローシスの3つに分類される。そのうちアポトーシスは生体内で不要な細胞を除去する能動的な細胞死、「プログラム細胞死」として注目され、盛んに研究が行われてきた。現在ではその制御因子としてカスパーゼ、チトクロームc、Apaf-1など様々な分子が同定されており、その分子メカニズムが詳細に解明されている。一方で、近年アポトーシスとは異なる細胞死（非アポトーシス型細胞死）がプログラム細胞死として見出されており、疾患との関連も明らかになっていることから細胞死研究において次なる命題として注目されるようになっていた。

2. 研究の目的

このような背景で、本研究では様々な細胞死を誘導ないしは抑制する化合物「細胞死制御剤」の開発を行う。さらにこれらをプローブ分子とすることで、細胞死制御メカニズムの分子レベルでの解明を目指す。

3. 研究の方法

これまでの細胞死研究において、細胞死制御で重要な役割を果たす分子群に対しては様々な阻害剤、活性化剤が開発されている。そこで、本研究では新しい細胞死制御分子を探索する際に、通常細胞死誘導活性を調べるだけでなく、既知の細胞死抑制剤や誘導剤を共存させて、その影響を同時に調べる (cell death inhibitor/inducer profiling)。これにより、既知の細胞死制御機構との関連性や、メカニズム推測が行えるだけでなく、新しいタイプの細胞死誘導剤/抑制剤を見出すことが期待できる。

この実験系を元に新しい細胞死制御剤の探索し、さらに化学的に構造修飾を施すことによりその活性を向上させる。得られた高活性の細胞死制御剤に蛍光団や精製のタグなどを導入し、これをツールとして作用機序解明を進める。

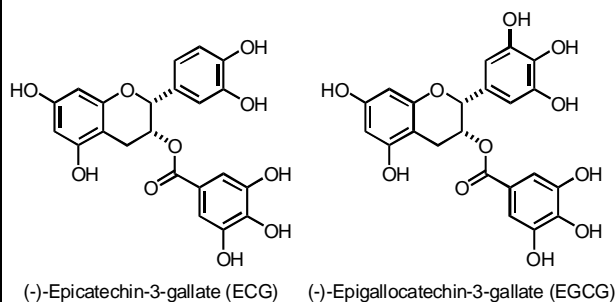
本研究では、できるだけ多くの化合物の活性を調べるために、細胞死誘導活性を中心に検討を進めた。

4. 研究成果

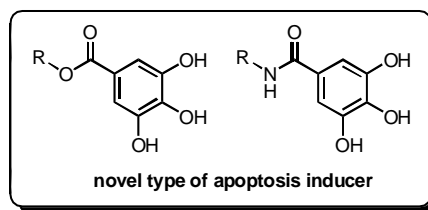
研究の初期段階では、既存の細胞死誘導剤/抑制剤のうち購入可能なものを広く文献検索・検討し、できるだけ少ない数で既知の細胞死誘導機構がほぼ網羅できる組み合わせを見出すことができた。その上で、これらを用いて既存の酵素阻害剤や、天然物およびその誘導体などの細胞死誘導活性を調べた。以下、それぞれの化合物に関して記載する。

(1) ガレート誘導体

緑茶に含まれるカテキン類のうち、抗癌活性が報告されている ECG および EGCG に共通する構造としてガレートに着目し、その誘導体の抗癌活性を検討した。その結果、リードの ECG や EGCG よりも強いアポトーシス誘導活性を示すものを見出すことができた。また、これが小胞体ストレスを介してアポトーシスを誘導していることも明らかにした。



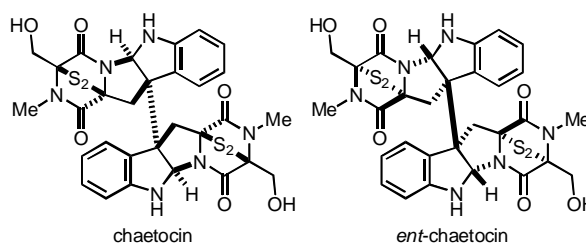
(-)-Epicatechin-3-gallate (ECG) (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)



novel type of apoptosis inducer

(2) chaetocin 類縁体

真菌の二次代謝産物として単離された天然物 chaetocin の鏡像異性体 *ent*-chaetocin に関して、天然物を上回るアポトーシス誘導能を見出した。さらにこれは、カスパーゼ8を経由したミトコンドリア非関与の経路を介していることを明らかにすることができた。多くの抗癌剤がミトコンドリア関与のアポトーシス経路を利用して抗癌活性を示すのに対して、新しい経路での抗癌活性が期待できると考えられる。



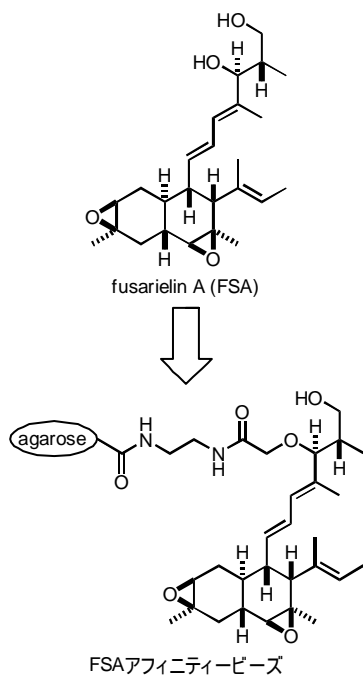
chaetocin

ent-chaetocin

(3) fusarielin A

微生物代謝産物として単離された fusarielin A は様々な生理活性を有している。その中で、アポトーシス誘導活性と血管新生阻害活性に着目し、その分子基盤を明らかにすることを計画した。構造活性相関に基づき作製したアフィニティービーズを用いて結合タンパク質チューブリンおよびア

クチンを同定することができた。



(4) ネクロシス誘導分子 NecroTrigger (NT) 化合物

各種細胞死誘導剤および抑制剤を行う過程で、ヒト白血病細胞 HL-60 においてカテプシンの阻害剤として市販されている CATI-1 がネクロシス様の細胞死を誘導することを見出した。このネクロシス様の細胞死は既知の細胞死抑制剤では止めることができず、全く新しい細胞死経路を介していることが期待された。そこで、プローブ化を視野に置いて種々構造展開を行い、より活性の高いネクロシス誘導分子 NT 化合物の開発に成功した。

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 6 件)

1. T. Noguchi-Yachide, K. Dodo, H. Aoyama, H. Fujimoto, M. Hori, Y. Hashimoto, H. Kobayashi, "Identification of binding proteins of fusarielin A as actin and tubulin" *Chem. Pharm. Bull.*, **2010**, *58*, 129-134. (査読有)
2. Y. Teng, K. Iuchi, E. Iwasa, S. Fujishiro, Y. Hamashima, K. Dodo, M. Sodeoka, "Unnatural enantiomer of chaetocin shows strong apoptosis-inducing activity through caspase-8/caspase-3 activation" *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 5085-5088. (査読有)

3. M. Sodeoka and K. Dodo "Development of Selective Inhibitors of Necrosis" *Chem. Rec.*, **2010**, *10*, 308-314. (査読有)
4. K. Dodo, T. Minato, Y. Hashimoto, "Structure-activity relationship of bis-galloyl derivatives related to (-)-epigallocatechin gallate" *Chem. Pharm. Bull.*, **2009**, *57*, 190-194. (査読有)
5. K. Dodo, T. Minato, T. Noguchi-Yachide, M. Suganuma, Y. Hashimoto, Antiproliferative and apoptosis-inducing activities of alkyl gallate and gallamide derivatives related to (-)-epigallocatechin gallate *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 7975-7982. (査読有)
6. T. Misawa, H. Aoyama, T. Furuyama, K. Dodo, M. Sagawa, H. Miyachi, M. Kizaki, Y. Hashimoto, "Structural Development of Benzhydryl-type 1'-Acetoxychavicol Acetate (ACA) Analogs as Human Leukemia Cell-growth Inhibitors Based on QSAR Analysis" *Chem. Pharm. Bull.*, **2008**, *56*, 1490-1495. (査読有)

[学会発表] (計 17 件)

1. 藤玉鷗、井内勝哉、園園孝介、岩佐江梨子、藤城信哉、濱島義隆、袖岡幹子、天然物 chaetocin およびその類縁体のアポトーシス誘導メカニズム解明、日本薬学会第 131 年会 (静岡 2011 年 3 月 31 日)
2. 早水健二、園園孝介、山口卓男、清水忠、一丸直哉、袖岡幹子、新規細胞死抑制剤の構造活性相関、日本薬学会第 131 年会 (静岡 2011 年 3 月 29 日)
3. S. Sato, K. Dodo, Y. Teng, S. Kamisuki, Y. Hashimoto, M. Sodeoka, Development and mechanistic study of novel cell death inducer: elucidation of the molecular mechanism of oxidative-stress-induced necrosis, Pacificchem2010, Honolulu, USA, Dec. 19th (2010)
4. Y. Teng, K. Iuchi, K. Dodo, E. Iwasaa, S. Fujishiro, Y. Hamashima and M. Sodeoka, 天然物 chaetocin およびその類縁体のアポトーシス誘導メカニズム解明、第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (神戸 2010 年 12 月 9 日)
5. K. Iuchi, Y. Teng, K. Dodo, T. Shimizu, Y. Mori, and M. Sodeoka, 細胞死抑制剤 IM-54 のミトコンドリア機能障害に対する抑制作

- 用, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会 (神戸 2010 年 12 月 9 日)
6. 早水健二、圃圃孝介、山口卓男、清水忠、一丸直哉、袖岡幹子、新規細胞死抑制剤 Indolylactam(IL) 誘導体の構造展開, 第 29 回メディシナルケミストリーシンポジウム (京都 2010 年 11 月 18 日)
 7. 佐藤伸一、どど孝介、藤玉鷗、紙透伸治、橋本祐一、袖岡幹子、新規細胞死誘導剤 NecroTrigger をツールとしたネクロシス分子機構解明, 日本薬学会第 130 年会 (岡山 2010 年 3 月 29 日)
 8. 早水健二、清水忠、圃圃孝介、一丸直哉、袖岡幹子、Indolylmaleimide(IM) 誘導体を出発点とした新規細胞死抑制剤の構造展開, 第 28 回メディシナルケミストリーシンポジウム (東京 2009 年 11 月 26 日)
 9. 佐藤伸一、圃圃孝介、藤玉鷗、橋本祐一、袖岡幹子、ネクロシスの分子機構解明を目指した新規細胞死誘導剤の開発, 日本ケミカルバイオロジー学会 第 4 回年会 (神戸 2009 年 5 月 18 日)
 10. 三澤隆史, 青山洋史, 古山溪行, 圃圃孝介, 佐川森彦, 宮地弘幸, 木崎昌弘, 橋本祐一, 1'-Acetoxychavicol acetate(ACA) をリード化合物としたベンズヒドロール型新規細胞増殖抑制剤の創製研究, 日本薬学会第 129 年会 (京都 2009 年 3 月 28 日)
 11. 佐藤伸一、圃圃孝介、藤玉鷗、橋本祐一、袖岡幹子、ネクロシスの分子機構解明を目指した新規細胞死誘導剤の創製, 日本薬学会第 129 年会 (京都 2009 年 3 月 26 日)
 12. 一丸直哉, 清水忠, 藤玉鷗, 圃圃孝介, 袖岡幹子, フォトアフィニティーラベリングを用いた IM 誘導体のターゲットタンパク質の同定, 日本薬学会第 129 年会 (京都 2009 年 3 月 26 日)
 13. 藤玉鷗, 圃圃孝介, 清水忠, 森靖典, 袖岡幹子, 新規細胞死抑制剤 IM-54 の作用機序解明, 日本薬学会第 129 年会 (京都 2009 年 3 月 26 日)
 14. 圃圃孝介, 清水忠, 笹森潤, 相原和行, 袖岡幹子, 新規細胞死抑制剤 Indolylmaleimide(IM) 誘導体の開発, 日本薬学会第 129 年会 (京都 2009 年 3 月 26 日)
 15. 三澤隆史, 青山洋史, 古山溪行, 圃圃孝介, 佐川森彦, 宮地弘幸, 木崎昌弘, 橋本祐一, 1'-Acetoxychavicol acetate(ACA) をリード化合物とした新規細胞増殖抑制剤の創製研究, 第 27 回メディシナルケミストリーシンポジウム (大阪 2008 年 11 月 26 日)
 16. 圃圃孝介, 加藤美穂, 笹森潤, 相原和行, 清水忠, 高橋昌弘, 袖岡幹子, 新規細胞死抑制剤 Indolylmaleimide(IM) 誘導体の開発, 第 27 回メディシナルケミストリーシンポジウム (大阪 2008 年 11 月 26 日)
 17. 佐藤伸一, 圃圃孝介, 藤玉鷗, 橋本祐一, 袖岡幹子, 抗がん剤耐性克服を目指した非アポトーシス型細胞死誘導剤の創製研究, 第 27 回メディシナルケミストリーシンポジウム (大阪 2008 年 11 月 26 日)
- 〔図書〕 (計 1 件)
1. 圃圃孝介, 袖岡幹子: “ネクロシス抑制剤の開発: 細胞死メカニズムの解明を目指して” 化学と生物, 46, 478-482 (2008)
- 〔産業財産権〕
- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)
- 〔その他〕
なし
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
どど 孝介 (DODO KOSUKE)
独立行政法人理化学研究所・袖岡有機合成化学研究室・研究員
20415243
- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし