

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3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22501013

研究課題名（和文） ガン細胞の走化浸潤を担うダイナミンナノクリップ：新たな制ガン剤の分子標的

研究課題名（英文） The role of dynamin in actin dynamics: Development of anticancer drugs inhibiting dynamin function

研究代表者

阿部 匡史 (ABE TADASHI)

岡山大学・医学部・技術専門職員

研究者番号：60423282

研究成果の概要（和文）：

これまでに181種類のダイナミン阻害剤ダイナソアの構造類縁化合物につきアクチン線維形成阻害を有する分子をスクリーニングした結果、ダイナソアよりも、強力なアクチン線維形成阻害作用を持つ分子DBHA (N'-(4-(diethylamino)benzylidene)-4-methoxybenzohydrazide)を同定した。この分子の抗がん効果を調べた。DBHAは、ヒト肺がん細胞株の血清刺激依存性ラッフル膜形成、遊走、浸潤能を強く阻害した。遊走、浸潤能の阻害を示すDBHAの濃度では、細胞毒性も見られなかった（論文作成中）。さらに、阻害剤作用の基本となるダイナミンによるアクチン制御機構の一部を解明した。ダイナミン・コルタクチン複合体は、数本のアクチン線維を束化することによりアクチン線維を安定化する。このアクチン制御機構は、神経細胞突起伸長、がん細胞の遊走に必要であり、ダイナミン阻害剤の作用機序を知る上で、非常に重要な知見が得られた。これらの結果の一部をJ. Neuroscience誌に発表した。得られた知見は、神経再生、がん細胞の転移治療の基盤になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：

In search of more effective inhibitor for dynamin than dynasore, one hundred eighty one dynasore analogues were screened by in vitro actin polymerization assay.

N'-(4-(diethylamino)benzylidene)-4-methoxybenzohydrazide (DBHA) was identified as a potent dynamin inhibitor. DBHA strongly inhibited the serum-stimulated ruffle formation, cell migration and invasion. Under these conditions, DBHA showed little toxicity for cultured cancer cell line. Furthermore, we clarified the function of dynamin/cortactin complex in the regulation of actin dynamics. The dynamin/cortactin complexes bundled several actin filaments and the bundling stabilized actin filaments. The actin bundling by dynamin/cortactin complex was necessary for formation of growth cone filopodia and cell migration. These findings might be crucial for developing anti cancer drugs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍生物学

キーワード：ダイナミン、がん

1. 研究開始当初の背景

ダイナミンは、神経細胞のエンドサイトーシスの際のシナプス小胞再生に働く分子として知られている。これまで、我々は、ダイナミン関連タンパクがアクチン制御に働くことを発見してきた (Yamada et al., MBC, 2007; JBC, 2009)。特に、ダイナミンは、日欧米の研究者からアクチン再構成に必須の分子であることが示唆されていたが、長らくその実体は不明であった。近年、我々はダイナミン阻害剤ダイナソアが、がん細胞の走化浸潤に必要な糸状仮足、葉状仮足の形成を効果的に阻害することを見いだした (Yamada et al., BBRC, 2009)。以上の結果から、ダイナミンを標的分子にした制がん剤の可能性を見いだし、本研究の立案に至った。

2. 研究の目的

本研究はダイナミンのアクチン制御機構の全貌を解明すること及びダイナソアをリーディング化合物として、さらに強力な制がん作用を持つ分子を *in vitro* 及び *in vivo* で同定することを目的とする。

3. 研究の方法

ダイナミン阻害剤ダイナソアより、より強力に制がん作用のある分子を探索するために、ダイナソアをリーディング化合物として、構造類縁化合物を *in vitro* アクチン線維形成評価系を用いてスクリーニングする。構造類縁化合物は連携研究者の浅井博士より提供

を受ける。まず、阿部及び分担研究者の山田博士と共にアクチン重合活性を低下させる分子をスクリーニングする。続いて、ダイナミンGTPアーゼ活性、細胞浸潤活性に対するこれら分子の効果を評価する。最終的に、渡部博士がマウスを用いたがん細胞抗転移作用、抗腫瘍作用の評価を行う。分担研究者の山田博士は、スクリーニングと並行して、ダイナミンのアクチン制御の分子機構の解析を行う。

4. 研究成果

既知のダイナミン阻害剤ダイナソアよりも、アクチン線維形成を強力に抑制する DBHA を同定した。DBHA は、ヒト肺がん細胞の遊走、浸潤を強く抑制した。DBHA とアクチン線維形成を指標にしたスクリーニング方法をあわせて、特許出願した。DBHA は、細胞毒性が低く、抗がん剤候補として有用であると考えられる。今後、DBHA の基本構造をもとにさらに構造最適化を進める予定である。我々の研究は、抗がん作用を持つダイナミンに対する分子標的薬を目指しており、国内外を問わず、独創性の高い研究である。同時にダイナミンによるアクチン制御機構を世界に先駆けて明らかにした。得られた知見は、ダイナミンに関する細胞生物学のみならず創薬研究に多大に波及効果をもたらすと期待される。

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 Yamada H, Abe T, (他10人、2番目): Stabilization of actin bundles by a Dynamin 1 / Cortactin ring complex is necessary for growth cone filopodia. 査読有 33, 4514-4526, 2013, DOI 10.1523/JNEUROSCI.2762-12.2013.

〔学会発表〕(計8件)

- ① 竹居 孝二、Dynamin GTPase / Cortactin ring complex is a mechanochemical device stabilizing actin bundles、日本生体エネルギー研究会 第38回討論会、平成24年12月23日、岡山大学薬学部 (岡山)
- ② 岡崎 奈奈、Dynamin を標的にした抗遊走、浸潤薬の開発、第85回日本生化学会大会、平成24年12月16日、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡 (福岡)
- ③ 山田 浩司、Phosphorylation of cortactin by PKC is a key factor for filopodia formation of growth cone、第85回日本生化学会大会、平成24年12月15日、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡 (福岡)
- ④ 竹居 孝二、PKC phosphorylation of cortactin is implicated in the regulation of acyin dynamics、第51回米国細胞生物学会大会、平成23年12月4日、デンバー (米国)
- ⑤ 山田 浩司、成長円錐糸状仮足形成におけるCortactinのPKCαによるリン酸化とアクチン制御の可能性、第84回日本生化学会大会、平成23年9月22日、国立京都国際会館

- ⑥ 山田 浩司、Actin bundle formation by dynamin-cortactin complexes is important for filopodium stability of growth cones.、日本薬学会第131年会、平成23年3月30日

- ⑦ 山田 浩司、Amphiphysin 1 とN-WASPの動的な相互作用はアクチン重合を制御する、第33回日本神経科学、第53回日本神経化学、第20回日本神経回路学会合同年会、平成22年9月2日、神戸国際会議場

- ⑧ 竹居 孝二、Dynamin 1/Cortactin complex mechanically bundles actin filaments and supports the formation of filopodia.、第33回日本神経科学、第53回日本神経化学、第20回日本神経回路学会合同年会、平成22年9月3日、神戸国際会議場

〔図書〕(計1件)

- ① Takei K, Yamada H, Abe T. Use of liposomes to study vesicular transport., Methods in Molecular Biology, 606, 531-542, 2010

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

- ① 名称: 「フルボキサミンを配合することを特徴とする分子標的型抗癌剤 (特に抗脳腫瘍治療薬剤: 第二医薬品用途)」

発明者: 道上宏之、林圭一郎、松井秀樹、山田浩司、竹居孝二、宮地弘幸、浅井章良

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願2012-263317

出願年月日: 24年11月30日

国内外の別: 国内

② 名称：「抗浸潤薬の新規スクリーニング法
および抗浸潤剤」

発明者：山田浩司、竹居孝二、道上宏之、松
井秀樹、浅井章良

権利者：同上

種類：特許

番号：特願2012-137489

出願年月日：24年6月19日

国内外の別：国内

〔その他〕

報道発表

①「神経伸長制御の仕組みを解明」

山陽新聞、平成25年3月30日

②「神経細胞をつなげる2種のたんぱく質」

読売新聞、平成25年4月8日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿部 匡史 (ABE TADASHI)

岡山大学・医学部・技術専門職員

研究者番号：60423282

(2) 研究分担者

山田 浩司 (YAMADA HIROSHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・

准教授

研究者番号：80325092

渡部 昌実 (WATANABE MASAMI)

岡山大学・岡山大学病院・准教授

研究者番号：70444677

(3) 連携研究者

浅井 章良 (ASAI AKIRA)

静岡県立大学大学院・創薬探索センター・

教授

研究者番号：60381737