

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：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22651084

研究課題名（和文） ケミカルシステム生物学手法による細胞遊走シグナルの普遍性と多様性解析

研究課題名（英文） A combination study of chemical and systems biology identifying novel features of signaling pathway in cancer cell migration

研究代表者

井本 正哉（ IMOTO MASAYA ）

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：60213253

研究成果の概要（和文）：

細胞遊走制御機構の普遍性および多様性を担う分子群を明らかにするため、34種類の低分子化合物の影響を、10種類の遊走細胞において創傷治癒アッセイにより定量的に評価した。続いて、各細胞における化合物の遊走阻害プロファイルに対して階層的クラスタリングを行った。その結果、化合物は階層的クラスタリングによってそれらの標的分子にもとづいて的確に分類された。

研究成果の概要（英文）：

To analyze the diversity and consistency of regulatory signaling in cancer cell migration, the author assessed quantitatively the effects of 34 small molecular compounds on ten types of migrating cells by wound healing assay. Hierarchical clustering was performed on the subsequent migration inhibition profile of the compounds and cancer cell types. The author found that the cancer cells tested in this study were classified into three clusters, and the compounds were grouped into four clusters.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	0	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	540,000	3,640,000

研究分野：生物分子科学

科研費の分科・細目：分子生物科学

キーワード：ケミカルバイオロジー 細胞遊走

1. 研究開始当初の背景

細胞遊走は、白血球の異物貪食作用や外傷の自然治癒などの生理的現象だけでなく、がん転移などの病的現象にも関わる重要な生命現象である。特にがん細胞は、発現している分子の異なる様々な器官で生じ、変異している遺伝子も細胞ごとに異なるため、遊走に関わる情報伝達も個々に特徴が存在する事が考えられる。したがって、細胞遊走を制御するシグナル伝達パスウェイには、多くの細胞で共通に作動している「普遍的なパスウェイ」と個々の細胞ごとで固有に作動している「多様性パスウェイ」が存在するはずである。

2. 研究の目的

細胞応答シグナル伝達機構の解析は、これまでは個別細胞での分子レベルでの解析研究、もしくは最近ではバイオインフォマティクスに基づくバーチャルな細胞でのデータベース化が行われてきた。しかし、個々の細胞は遺伝的背景が異なることから、細胞応答を制御するシグナル伝達パスウェイには多様性と普遍性が存在するはずである。本研究では、細胞応答のモデルとして細胞遊走に着目し、ケミカルゲノミクスに基づいて複数の小分子化合物が様々な細胞の遊走に及ぼす影響を測定し、その結果をシステム生物学的手法で解析するケミカルシステム生物学の研究手法を構築し、細胞遊走を制御するシグナル伝達の「多様性と普遍性」を解析することを目的とする

3. 研究の方法

34 種類の標的分子既知の化合物が 10 種類のがん細胞の遊走に及ぼす影響を評価し、その感受性をクラスター解析によってプロファイリングを行った。次に、細胞遊走を阻害

する化合物が遊走時に活性化されるシグナル伝達分子に与える影響を定量的に解析し、その結果から各癌細胞株の遊走制御パスウェイを描画した

4. 研究成果

細胞遊走制御機構の普遍性および多様性を担う分子群を明らかにするため、34 種類の低分子化合物の影響を、10 種類の遊走細胞において創傷治癒アッセイにより定量的に評価した。続いて、各細胞における化合物の遊走阻害プロファイルに対して階層的クラスタリングを行った。その結果、化合物は階層的クラスタリングによってそれらの標的分子にもとづいて的確に分類された。さらに、本研究で用いたがん細胞は 3 つのクラスターに分類され、化合物は 4 つのクラスターにグループ分けされた。JNK 阻害剤はすべてのタイプの細胞遊走を抑制したが、ROCK、GSK-3、p38MAPK の阻害剤は、一部の細胞株の遊走のみを抑制した。このように、本解析システムによって、細胞遊走に対する共通なシグナル応答と細胞型特異的なシグナル応答を容易に区別することに成功した。このケミカルゲノミクス研究で明らかになった細胞遊走制御機構の普遍性および多様性を担う分子群のパスウェイ関係を明らかにするため、EGF 刺激依存的に遊走する 3 種類のがん細胞株において、EGF が誘導する 9 種類の情報伝達分子のリン酸化および発現上昇に対して、15 種類の細胞遊走阻害剤が与える影響を網羅的かつ定量的に評価した。続いて得られたデータをもとに、各がん細胞株における EGF 依存的細胞遊走を制御するシグナル伝達図を描画した。その結果、MAPK 経路や JNK/cJun 経路などは 3 細胞において普遍的である

が、他の多くのパスウェイが各細胞に特徴的に存在することが示唆された。特に、CysLT1 経路が TT 細胞では MAPK 経路を制御するが、EC109 細胞では PI3K/Akt 経路のみを制御するという結果は、これまでの研究からは予期出来ない興味深い結果であった。即ち、CysLT1 経路は EGF が引き起こすがん細胞遊走制御機構において細胞依存的なシグナル伝達を制御する分子であることが見出された。

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 27 件) (査読: 全て有り)

1. Ichige M, Fukuda E, Miida S, Hattan J, Misawa N, Saito S, Fujimaki T, Imoto M, Shindo K. Novel isoflavone glucosides in Groundnut (*Apios americana* Medik) and their antiandrogenic activities. *J. Agric. Food Chem.* 61, 2183-2187 (2013)
2. Shinjo S, Tashiro E, . Establishment of a new detection system for the dimerization of IRE1 α with BiFC method. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* in press
3. Shinjo S, Mizotani Y, Tashiro E, Imoto M. A Comparative Analysis of the Expression Patterns of UPR-Target Genes caused by UPR-inducing Compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77: 729-735 (2013)
4. Magi S, Shitara T, Takemoto Y, Sawada M, Kitagawa M, Tashiro E, Takahashi Y, Imoto M. Novel derivatives of aclacinomycin A block cancer cell migration through inhibition of farnesyl transferase. *J. Antibiot.* in press
5. Magi S, Tashiro E and Imoto M. A chemical genomic study identifying diversity in cell migration signaling in cancer cells. *Scientific Reports* 2: 823 (2012)
6. Kimura T, Kanagaki S, Matsui Y, Imoto M, Watanabe T, Shibasaki M. Synthesis and Assignment of the Absolute Configuration of an Indenotryptoline Bisindole Alkaloid, BE-54017. *Org. Lett.* 14: 4418-4421 (2012)
7. Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, Narita T, Masaki A, Ito A, Ding J, Kusumoto S, Ishida T, Komatsu H, Shiotsu Y, Ueda R, Iwawaki T, Imoto M, Iida S. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. *Blood Cancer J.* e79 (2012)
8. Kobayashi H, Harada, H, Nakamura M, Futamura Y, Ito A, Yoshida M, Iemura S, Shin-ya K, Doi T, Takahashi T, Natsume T, Imoto M and Sakakibara Y. Comprehensive Predictions of Target Proteins Based on Protein-Chemical Interaction Using Virtual Screening and Experimental Verifications. *BMC Chemical Biology*, 12: 2 (2012)
9. Sasazawa Y, Kanagaki S, Tashiro E, Nogawa T, Muroi M, Kondoh Y, Osada H, Imoto M. Xanthohumol Impairs Autophagosome Maturation through Direct Inhibition of Valosin-Containing Protein. *ACS Chemical Biology*, 7, 892-900 (2012)
10. Yamamoto K, Makino M, Watanapokasin R, Tashiro E and Imoto M. Inostamycin enhanced TRAIL-induced apoptosis through DR5 up-regulation on the cell surface. *J. Antibiot.* 65:295-300 (2012)
11. Tashiro E and Imoto M. Target identification of bioactive compounds. *Bioorg. & Med. Chem.* 20: 1910-1921 (2012)
12. Yamamoto K, Tashiro E, Motohashi K, Seto H and Imoto M. Napyradiomycin A1, an inhibitor of mitochondrial complexes I and II. *J. Antibiot.* 65:211-214 (2012)
13. Kiga M, Tanzawa F, Iwasaki S, Inaba F, Fujiwara K, Iwadare H, Echigo T, Nakamura Y, Shibata T, Suzuki K, Yasumatsu, I Nakayama A, Sasazawa Y, Tashiro E, Imoto M, S. Kurakata S. Antitumor effects of novel highly hydrophilic and non-ATP-competitive MEK1/2 inhibitor, SMK-17. *Anticancer Drugs.* 23: 119-130 (2012)
14. Kobayashi H, Ogura, Y, Sawada M, Nakayama T, Takano K, Minato Y, Takemoto Y, Tashiro E, Watanabe H & Imoto M. Involvement of 14-3-3 proteins in the second EGF-induced wave of Rac1 activation in the process of cell migration. *J. Biol. Chem.* 286: 39259-39268 (2011)
15. Yamada Y, Tashiro E, Taketani S, Imoto M and Kataoka T. Mycotrienin II, a translation inhibitor that prevents ICAM-1 expression induced by pro-inflammatory cytokines. *J. Antibiot.* 64: 361-366 (2011)
16. Kawamura T, Matsubara K, Otaka H, Tashiro E, Shindo, K, Yanagita R. C., Irie K and Imoto M. Generation of "Unnatural Natural Product" library and identification of a small molecule inhibitor of XIAP. *Bioorg. & Med. Chem.* 19: 4377-4385 (2011)
17. Sawada M, Kubo, S, Matsumura, K, Takemoto Y, Kobayashi H, Tashiro E,

- Kitahara T, Watanabe H and Imoto M. Synthesis and anti-migrative evaluation of moverastin derivatives. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 21: 1385-1389 (2011)
- 1 8. Yamamoto K, Tashiro E and Imoto M. Quinotrioxin Inhibits ER Stress-induced XBP1 mRNA Splicing through Inhibition of Protein Synthesis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 284-288 (2011)
- 1 9. Kitagawa M, Misawa M, Ogawa S, Tashiro E and Imoto M. A New Convenient Cell-based Screening Method for Small Molecule Glycolytic Inhibitors. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 367-369 (2011)
- 2 0. Saiki S, Sasazawa Y, Imamichi Y, Kawajiri S, Fujimaki T, Tanida I, Kobayashi H, Sato F, Kei-Ichi Ishikawa, Sato S, Imoto M, Hattori N: Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition. *Autophagy* 7: 42-53 (2011)
- 2 1. T. Ohtani, S. Tsukamoto, H. Kanda, K. Misawa, Y. Urakawa, T. Fujimaki, M. Imoto, Y. Takahashi, D. Takahashi[†], and K. Toshima. Total Synthesis of Incednam, the Aglycon of Incednine. *Org. Lett.*, 12: 5068–5071 (2010)
- 2 2. Kawamura T, Fujimaki T, Hamanaka N, Torii K, Kobayashi H, Takahashi Y, Igarashi M, Kinoshita N, Nishimura Y, Tashiro E, Imoto M.: Isolation and structure elucidation of a novel androgen antagonist, arabilin, produced by *Streptomyces* sp. MK756-CF1. *J. Antibiot.*, 63: 601-605 (2010)
- 2 3. Kitagawa M, Ikeda S, Tashiro E, Soga T, Imoto M. : Metabolomic identification of the target of the filopodia protrusion inhibitor glucopiericidin A. *Chemistry and Biology*, 17: 989-998 (2010)
- 2 4. M. Shirai, M. Okuda, K. Motohashi, M. Imoto, K. Furihata, Y. Matsuo, A. Katsuta, Y. Shizuri, H. Seto, Terpenoids produced by actinomycetes: isolation, structural elucidation and biosynthesis of new diterpenes, giphornenolones A and B from *Verrucospora giphornensis* YM28-088. *J. Antibiot.* 63: 245-250 (2010)
- 2 5. M. Urscher, JM. Przyborski, M. Imoto and M. Deponte. Distinct subcellular localization in the cytosol and apicoplast, unexpected dimerization and inhibition of *Plasmodium falciparum* glyoxalases. *Mol Microbiol.* 76: 92-103 (2010)
- 2 6. G. Hamanaka, M. Matsumoto, M. Imoto and H. Kaneko: Mesenchyme cells can function to induce epithelial cell proliferation

in starfish embryos. *Developmental Dynamics*, 293: 818-827 (2010)

- 2 7. Takeuchi M, Kimura S, Kuroda J, Ashihara E, Kawatani M, Osada H, Umezawa K, Yasui E, Imoto M, Tsuruo T, Yokota A, Tanaka R, Nagao T, Nakahata N, Fujiyama Y, Maekawa T.: Glyoxalase-I is a novel target against Bcr-Abl⁺ leukemic cells acquiring stem-like characteristics in hypoxic environment. *Cell Death Diff.*, 17: 1211-1220 (2010)

[学会発表] (計 27 件)

1. Shigeyuki Magi, Etsu Tashiro, and Masaya Imoto “Studies on the Signaling Pathway for Cancer Cell Migration by the Combination of Chemical Biology and Systems Biology” FOSBE 2012, 2012年10月22日, 鶴岡
2. 間木重行、田代悦、井本正哉「ケミカルシステムバイオロジーを用いた個別がん細胞の遊走制御機構解析」第70回日本癌学会学術総会 2011年10月4日, 名古屋
3. 間木重行、田代悦、井本正哉「ケミカルゲノミクスによる細胞遊走シグナル伝達機構解析」第69回日本癌学会学術総会, 2010年9月24日, 大阪
- その他、24件

[その他]

ホームページ等

<http://www.bio.keio.ac.jp/labs/imoto/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井本 正哉 (IMOTO MASAYA)
慶應義塾大学・理工学部・教授
研究者番号：60213253

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：