

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 24年 4月 6日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 東北大学

職名 教授

研究代表者 大島 吉輝

勤務先所在地 〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

電話番号 022-795-6822

ファックス番号 022-795-6821

Eメール oshima@mail.pharm.tohoku.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号 11018)

1. 研究プロジェクト 名と共同研究 課題名	「代謝シグナル機能研究プロジェクト」			
2. 共同研究目的	我々は、細胞性粘菌由来の化合物 DIF-1 とその誘導体が、複数の薬理作用を有することを明らかにしてきた。本共同研究により、それら薬理作用の機構解析を進めると共に、DIF をリード化合物とした薬剤の開発を目指す。			
3. 共同研究期間	平成 23年 4月 1日 ~ 平成 24年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 大島 吉輝	59	大学院薬学研究科	教授	研究の総括
(分担研究者) 菊地 晴久	36	大学院薬学研究科	准教授	DIF 誘導体の化学合成
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	遺伝子情報	氏名	久保原 禅

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

①各種 DIF 誘導体の化学合成(大島、菊地)

DIF の側鎖を変えた各種 DIF 誘導体(DIFs)を合成する。また、蛍光発色体を結合したDIF 誘導体も合成する。

②各種 DIF 誘導体の薬理作用の解析と作用機構の解析(久保原、大島)

DIFs の糖代謝促進作用(3T3L1 細胞)と IL-2 制御作用(Jurkat 細胞)を解析する *in vitro assay* 系はすでに確立している。それら assay 系を利用して、DIFs の作用解析と作用機序の解析を進める(蛍光 DIF 誘導体、Western blot 法や RNAi 法などを駆使)。

③新規薬剤の開発(大島、菊地、久保原)

上記の検討を繰り返しながら、より有効な DIF 誘導体をデザイン・合成し、DIF をリード化合物とした新規な肥満/糖尿病治療薬あるいはまた免疫制御剤の開発を目指す(*in vivo* 検討へと繋げる)。

7. 共同研究の成果

23年度は、以下の研究を進めた。

1) DIF-1 と DIF-1(3M)は、*in vitro* で confluent 状態のマウス 3T3L1 細胞などの糖代謝を促進する DIF 誘導体であり、肥満/糖尿病治療薬のリード化合物として期待されている。今回我々は、3T3L1 細胞の *in vitro* 培養系を利用して、DIFs の作用機序の解析を進めた。

その結果、DIFs は少なくとも一部 AMP Kinase (AMPK) を活性化することにより細胞の糖代謝を促進していることが判明した。興味深いことに、DIFs による AMPK 活性化は AICAR (AMPK の activator)よりも微小であったが、その一方で、DIFs による糖代謝促進作用は、AICAR よりも強く、細胞毒性も少なかった。現在、我々は、DIFs の作用機序の詳細を解析している。

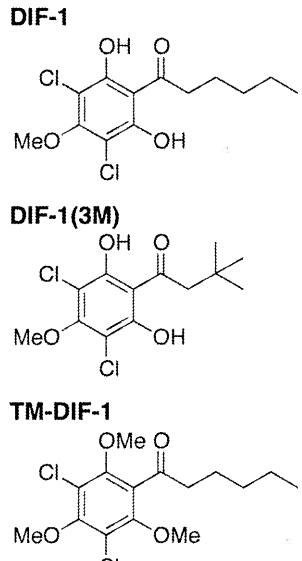
2) TM-DIF-1 は、*in vitro* で mitogen 刺激した Jurkat 細胞の IL-2 産生を阻害する DIF 誘導体であり、免疫抑制剤/抗炎症剤のリード化合物として期待されている。今回、我々は、mitogen 刺激したマウスにおける TM-DIF-1 の薬効を検討した。まず、TM-DIF-1 をマウスに投与し、コンカナバリン A で刺激 4 時間後の血中の IL-2 濃度を測定した。

その結果、TM-DIF-1 投与群はコントロール(vehicle 投与)群に比較して有意に IL-2 濃度が下降していることが明らかとなった。現在、我々は、Jurkat 細胞の *in vitro* 培養系を利用して、TM-DIF-1 の作用機序の解析を進めている。

3) DIF 誘導体は様々な薬理作用を有する化合物だがそれらターゲットタンパク質や作用機序の詳細については不明の点が多い。それらを解明するための 1 手法として、我々は、蛍光発色体(BODIPY)を結合した DIF 誘導体(BODIPY-DIF)を合成し、BODIPY-DIF の薬理作用と、DIF の細胞内局在を検討した。

その結果、BODIPY-DIF は、各種細胞の増殖を抑制すること、confluent 状態の 3T3L1 細胞の糖代謝を促進することを確認した。また、BODIPY-DIF が添加後速やかに細胞膜系に侵入し、主にミトコンドリアに局在することを見出した。生細胞における DIF 誘導体の細胞内局在を明らかにしたのは世界初。

(すべて未発表につき、数値や方法論等の詳細は省いている)



8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

学会発表は行っていない。また、今回の成果を基にいくつかの論文の草案を作成しつつあるが、まだ発表には至っていない。