

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25年 4月12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」 細胞性粘菌由来の低分子物質 DIF の薬理作用の解析と新規代謝制御剤の開発			
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 24年 4月 1日 ~ 平成 25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	60	大学院薬学研究科	教授	研究の総括
(分担研究者) 菊地 晴久	37	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 禪

※ 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)。

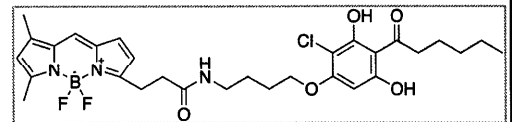
③新規薬剤の開発(大島、菊地、久保原)

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)。

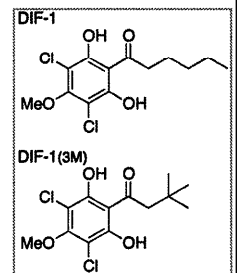
7. 共同研究の成果

24年度は、以下の研究を実施した。

1) 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、H23年度より、蛍光発色体(BODIPY)を結合した DIF 誘導体(BODIPY-DIF-3: 右上図)を合成し、BODIPY-DIF-3 の生物活性と細胞内局在を検討してきた。その結果、BODIPY-DIF-3 は、①ヒト HeLa 細胞およびマウス骨肉腫 LM8 細胞の増殖を抑制すること、②confluent 状態の 3T3L1 細胞の糖代謝を促進することを確認した。また、③BODIPY-DIF-3 が添加後速やかに細胞膜系に浸透し、主にミトコンドリアに局在すること、また、④DIFs が単離したミトコンドリアの酸素消費を促進すること、等を見出した。



2) DIF-1 と DIF-1(3M)(右図)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。これまでの成果・知見から DIF の作用機序は「DIF→→エネルギー産生阻害→ATP 減少→AMP kinase 活性化→→糖取り込み促進」の可能性があった。しかしながら、我々は、①DIF 処理によって細胞内の ATP 濃度はさほど減少しないこと、②AMP kinase を阻害しても、DIF による糖代謝促進活性は完全には阻害されないこと等を見出した。すなわち、DIF による糖代謝促進作用は、AMP kinase 系を介さない経路であることが示唆された。



3) 群馬大学保健学科嶋田先生との共同研究がスタートし、トリパノソーマ原虫に対する DIF 誘導体の効果を検討した結果、ある種の DIF 誘導体が原虫の宿主への感染と増殖を阻害することを見出した。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(学会発表)

- 1) 久保原禪、菊地晴久、松尾祐介、大島吉輝、本間好「HeLa 細胞における DIF 蛍光体の局在と機能」日本細胞性粘菌学会第2回例会 2012年11月17日 東京
- 2) 高橋克典、村上正巳、菊地晴久、大島吉輝、久保原禪「細胞性粘菌由来の薬理活性物質によるインターロイキン-2(IL-2)発現制御」第59回日本臨床検査医学学術集会 2012年11月30日 京都国際会館

(論文発表)

- 1) Seya K, Kanemaru K, Matsuki M, Hongo K, Kitahara H, Kikuchi H, Oshima Y, Kubohara Y, Okumura K, Motomura S, & Furukawa K. (2012) Br-DIF-1 accelerates dimethyl sulphoxide-induced differentiation of P19CL6 embryonic carcinoma cells into cardiomyocytes. *Brit. J. Pharmacol.* 165(4), 870-879.
- 2) Kikuchi H, Matsuo Y, Katou Y, Kubohara Y, & Oshima Y. (2012) Isolation, Synthesis and Biological Activity of Biphenyl and m-Terphenyl-Type Compounds from *Dictyostelium* Cellular Slime Molds. *Tetrahedron* 68(43), 8884-8889.
- 3) Nakajima-Shimada J, Hatabu T, Hosoi Y, Onizuka Y, Kikuchi H, Oshima Y, & Kubohara Y. (2013) Derivatives of *Dictyostelium discoideum* differentiation-inducing factor-3 suppress the activities of *Trypanosoma cruzi* in vitro and in vivo. *Biochem. Pharmacol.* in press.
- 4) Yamada Y, Kubohara Y, Kikuchi H, Oshima Y, Wang HY, Ross S, & Williams JG. (2013) The *Dictyostelium* prestalk inducer DIF-1 directs phosphorylation of a bZIP transcription factor. *Int. J. Dev. Biol.* in press.