

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 28 年 4 月 28 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所 属 機 関 名 群馬大学 大学院理工学府
職 名 准教授
研 究 代 表 者 山田 圭一

下記のとおり平成26年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号: 14036)

1. 共同研究課題名	ホルモン非感受性乳がんに対するペプチド薬剤の細胞死誘導機構の解明				
2. 共同研究目的	ホルモン療法が適用できないトリプルネガティブ乳がんの細胞死を誘導する環状ペプチド薬剤を開発し、その細胞死誘導機序を解明する。				
3. 共同研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日				
4. 共同研究組織					
氏 名	所属部局等		職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 山田 圭一	群馬大学 大学院理工学府 分子科学部門		准教授	研究全体の統括 細胞死誘導化合物の合成	
(分担研究者) 藤澤 知己	群馬県立がんセンター 乳腺外科		部長	細胞死誘導化合物の評価	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員		分野名	分泌制御分野	氏 名	鳥居 征司

※ 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

トリプルネガティブ乳がん(TNBC)は、がんの増殖に関わるホルモン受容体(エストロゲン・プロゲステロン受容体)及びHER2受容体が発現していない予後不良の悪性腫瘍であり、腫瘍化因子の解明とこれを標的とした分子標的薬の開発が望まれている。申請代表者らは、天然物由来環状ペプチドの改変体(SA-I)が、培養TNBC細胞(MDA-MB231)に対してカスパーゼ3に依存しない細胞死を誘導することを見出した。またアポトーシスなどを阻害する種々の薬剤を共存させても細胞死を抑制できなかったことから、SA-Iが作用する細胞死の機構に注目している。本研究では、TNBC細胞に対するSA-Iの細胞死誘導機構を明らかにするとともに、SA-Iの種々の改変体を作製して、より効果的な抗癌剤開発を目指す。

SA-I 類縁体開発の一環として本年度は、シリル化フェニルアラニンを含む類縁体や、SA-I 配列中の任意の位置にアミノ酸残基を1残基増やした環状6残基アナログ群の合成を検討する。これらの類縁体について、がん細胞を用いた感受性試験を行い評価する。また、ケミカルバイオロジー的手法を用いて細胞内標的分子の同定を進めるとともにSA-Iが誘導する細胞死に対し抑制効果を示すシグナル伝達分子阻害剤の探索を行う。

7. 共同研究の成果

1)シリル化フェニルアラニンの合成とこれを含む SA-I アナログの合成

これまでの研究で1位Phe残基のパラ位にフッ素以外のハロゲン原子を持つSAアナログが細胞毒性を示すことが分かっている。そこで、構造活性相関研究に用いる新規アナログ合成の一環として、1位Phe残基のパラ位に様々な置換基を持つペプチドの合成を計画した。今年度は、トリエチルシリル化Pheを用いて新規SAアナログを合成した。

2)細胞内標的探索研究に用いる SA-I 関連分子プローブの合成

前年度に合成したBODIPY標識SA-Iを用いて蛍光顕微鏡観察によるSA-Iの細胞内局在解析を行った。培養TNBC細胞(MDA-MB-231, MDA-MB-157)に対してプローブを添加し、2時間培養後蛍光観察した。その後、オルガネラマーカーとの共染色実験から、合成したプローブは小胞体(ER)に局在している可能性が示唆された。今後、ERがSA-Iの真の標的なのか多面的に解析を行うと共に細胞死との関連性について調べる。

3)細胞内標的探索研究に用いる SA-I 関連分子プローブの合成

細胞死研究に詳しい鳥居准教授の助言により、SA-Iと同様に非アポトーシス細胞死を誘導する薬剤を用いた作用機序研究を行った。本年度は低分子薬剤ErastinやRSL3に注目し、これらの薬剤が誘導するがん細胞のFerroptosisの解析を行った。その結果、細胞内酸性オルガネラが発現する活性酸素が細胞死に必要であること等を明らかにした。今後、SA-I及び関連アナログを用いてTNBC細胞でも同様の細胞死が起こるかどうか検証する。

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を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

S. Torii, C. Kubota, R. Shintoku, M. Yaegashi, R. Torii, T. Suzuki, M. Sasaki, M. Mori, Y. Yoshimoto, T. Takeuchi and K. Yamada
“An essential role for functional lysosomes in ferroptosis of cancer cells”
Biochem. J., **473**, 769-777.(2016) DOI: 10.1042/BJ20150658