

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 27 年 4 月 30 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                   | 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。 |         |                        |       |
| 3. 共同研究期間                   | 平成 26 年 4 月 1 日 ~ 平成 27 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)<br>山田 圭一            | 群馬大学 大学院理工学府<br>分子科学部門  | 准教授     | 研究全体の統括<br>細胞死誘導化合物の合成 |       |
| (分担研究者)<br>藤澤 知巳            | 群馬県立がんセンター<br>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<br>の共同研究担当教員 | 分野名   | 内分泌制御分野 | 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

SA-I 及びその類縁体の開発の一環として本年度はやケミカルバイオロジー的手法による標的分子探索・同定用プローブと新規誘導体合成に用いる非天然アミノ酸の合成を行う。また、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も行う。これら SA-I 類縁体について、がん細胞パネル(ATCC)を用いた感受性試験などを行い、有効な薬剤の開発を進めていく。これと並行して、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) D-アミノ酸で置換した SA-I アナログの合成と生物活性評価

SA-I の構造活性相関研究の一環として構成アミノ酸の1つを D-アミノ酸に置換した4種類の SA-I アナログを合成した。これらのアナログ体を MDA-MB231 に投与したところ、いずれのペプチドも細胞毒性をほとんど示さなかった。NMR 解析や配座計算の結果から、親化合物である SA-I は平面的な分子構造を有することがわかり、この構造が細胞毒性に重要である可能性が示唆された。

### 2) 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。本年度はその前駆体となるトリエチルシリル化 Phe 誘導体(Boc-Phe(4-SiEt<sub>3</sub>)-OH, 新規化合物)を合成し、実際にペプチド固相合成に適用できることを確認した。

### 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

ビオチン化 SA-I および BODIPY-SA-I の作製を行った(図1)。前者は、SA-I の細胞内標的分子を同定するためのプローブであり、作製したビオチン化 SA-I と細胞抽出液を作用させ、アビジンカラムを用いて複合体を精製する。後者は、蛍光顕微鏡観察によるペプチドの細胞内局在の同定および作用機序の推定に用いる。本年度の研究でビオチン化 SA-I および BODIPY-SA-I の合成を完了した。次年度はこれらの標識ペプチドを用いて標的分子探索実験を行う。

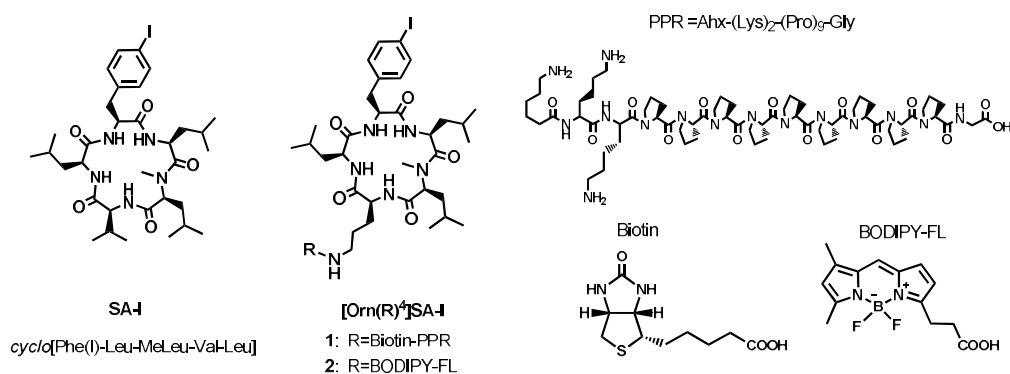


図1. 標的分子探索用 SA-I プローブの構造

## 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部提出して下さい。)