

プレスリリース

平成25年8月19日
群馬大学生体調節研究所
東北大学大学院薬学研究科
福島県立医科大学医学部

細胞性粘菌由来の抗がん剤候補物質がミトコンドリアの 代謝機能を妨害することを発見 ～ミトコンドリアを狙い撃つ新しい抗がん剤の開発に向けて前進～

趣旨・目的

群馬大学（高田邦昭 学長）生体調節研究所（岡島史和 所長）の久保原^{ゆずる} 准教授、東北大学（里見進 総長）大学院薬学研究科（大島吉輝 研究科長）の大島吉輝 教授、菊地晴久 准教授、並びに福島県立医科大学（菊地臣一 学長）医学部（大戸齊 学部長）の本間^{よしみ}好 教授らの研究グループは、細胞性粘菌^{さいぼうせいねんきん}由来の抗がん剤候補物質に関する研究を行い、その研究成果が2013年8月15日付け米国オンライン科学誌「プロスワン（PLOS ONE）」に掲載されました。本プレスリリースは、その研究成果「Mitochondria are the target organelle of differentiation-inducing factor-3, an anti-tumor agent isolated from *Dictyostelium discoideum*（久保原ら, PLOS ONE 8巻, e72118. 2013 : <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0072118>）」の広報および内容紹介に関するものです。

研究の概要

<研究の背景>

細胞性粘菌類（以後「粘菌」）は、カビによく似た子実体を形成する土壌微生物だが、分類学的には真菌類（カビ・キノコ類）と異なる「界」に属するユニークな生物群とされています [参考図1]。近年、大島、菊地、久保原らの研究グループは、「粘菌類=未開拓創薬資源」と位置づけ、粘菌由来の薬剤候補物質の探索を進めてきました。

これまでに報告された粘菌由来の薬剤候補物質の中でもっとも良く研究されているのがDIF-1とDIF-3 [参考図1] という「抗がん剤の候補物質」です。久保原らは、

これらの化合物が各種がん細胞の増殖を阻害し、場合によっては暴走するがん細胞を正常な状態へ誘導することを発見しています。さらに、各種 DIF 誘導體 (DIF-1 と DIF-3 の類似物) を人工的に合成し、抗がん活性を比較検討し、DIF-3 とその誘導體が (DIF-1 とその誘導體よりも) 強い抗がん活性を有することを明らかにしました。久保原らは、これら DIF 様因子がどのような仕組みでがん細胞の増殖を阻害するのかを解明、報告してきましたが、その詳細は不明でした。

<研究成果>

今回、久保原、大島、菊地、本間らの研究グループは、DIF 様因子の作用機序を解明することを目的として、蛍光発色体 (BODIPY) と DIF-3 を結合した化合物 (BODIPY-DIF-3) を化学的に合成しました [参考図 2]。すなわち、この BODIPY-DIF-3 を利用して、これまで不明であった DIF 様因子の細胞内動態を世界で初めて可視化することで、DIF 様因子の作用機序の解明を試みました。

その結果、1) BODIPY-DIF-3 は、DIF-3 と同様にがん細胞の増殖を抑制する活性を有すること、2) BODIPY-DIF-3 をがん細胞に添加すると、即座にがん細胞内に浸透し、ミトコンドリア (エネルギーを生産する細胞内小器官) に局在・蓄積すること、そして、3) BODIPY-DIF-3 や DIF-3 などの化合物は、ミトコンドリアの機能を妨害すること等が明らかとなりました [参考図 3-6]。これらの結果は、「DIF 様因子が (少なくとも一部) がん細胞内のミトコンドリアの機能を阻害することによってがん細胞の増殖を阻害する」ことを示唆しています [参考図 7]。

近年、細胞のエネルギー生産工場である ミトコンドリア を狙い撃ちする がん化学療法 (mitochondria-directed chemotherapy) が有望ながん治療戦略として注目されており、今回の研究成果は、そのような戦略に沿った抗がん剤開発に繋がること期待されます。

社会的意義

近年、がん (悪性腫瘍) は我が国の死因のトップにランクされ、さらに、今後もがん患者は世界的に増加することが予想されており、より有効な治療法の確立 (抗がん剤、免疫賦活剤^{ふかつ}の開発、並びに外科的療法や放射線療法の改善・改良など) が求められています。いわゆる「化学療法」に用いられる既存の抗がん剤は、作用範囲の限界や副作用の問題等が指摘されており、より広範の腫瘍に有効で副作用の少ない抗がん剤の開発が重要となります。新たな抗がん剤の開発は、我が国のみならず世界規模でのがん撲滅を目指すための柱の 1 つであり、社会的意義は大きいと言えます。

なお、本研究は文部科学省科学研究費補助金および群馬大学生体調節研究所「内分泌・代謝学共同利用・共同研究拠点」事業などの助成を受けて行われました。

本件に関するお問い合わせ先：

(研究について)

群馬大学生体調節研究所遺伝子情報分野
准教授 久保原 禪
〒371-8512 群馬県前橋市昭和町 3-39-15
Tel: 027-220-8831, Fax: 027-220-8834
E-mail: kubohara@gunma-u. ac. jp

東北大学大学院薬学研究科医薬資源化学分野
准教授 菊地 晴久
教授 大島 吉輝
〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3
Tel: 022-795-6822, Fax: 022-795-6821
E-mail: 菊地 晴久 <hal@mail. pharm. tohoku. ac. jp>
大島 吉輝 <oshima@mail. pharm. tohoku. ac. jp>

福島県立医科大学医学部附属生体情報伝達研究所生体物質研究部門
教授 本間 好
〒960-1295 福島県福島市光が丘 1 番地
Tel: 024-547-1660, FAX: 024-548-3041
E-mail: yoshihom@fmu. ac. jp

(取材対応窓口)

群馬大学生体調節研究所
庶務係長 中島 光恵
〒371-8512 群馬県前橋市昭和町 3-39-15
Tel: 027-220-8822, Fax: 027-220-8899
E-mail: mitsue@jim. gunma-u. ac. jp

東北大学大学院薬学研究科
総務係長 山内 斎
〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3
電話 : 022-795-6801
FAX : 022-795-6805
E-mail: ph-som@bureau. tohoku. ac. jp

福島県立医科大学
〒960-1295 福島県福島市光が丘 1 番地
研究推進課・研究支援担当 成田 将
Tel: 024-547-1825, Fax: 024-547-1991
E-mail: snrt@fmu. ac. jp

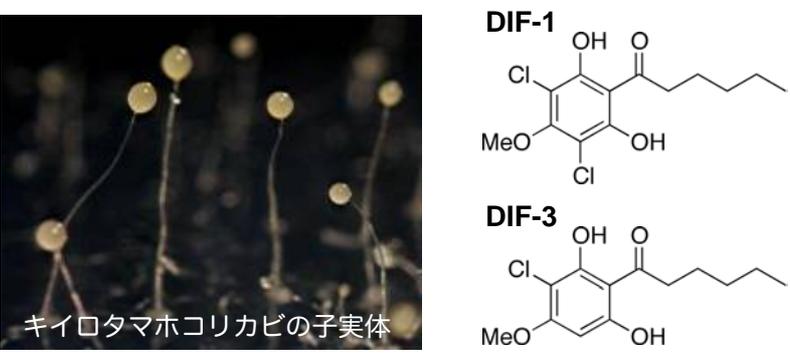
研究の詳細

<研究の背景 1 : がん治療について>

現在、我が国の死亡原因のトップは癌（がん）であり（年間 30 万人以上）、今後の増加が予想されている。現在のがん治療は主に、外科手術（除去）、放射線療法、化学療法（抗がん剤治療）あるいはそれらの併用だが、それぞれの治療法には長所と短所および限界があり、今後の進歩・進展が期待される。また、今話題の重粒子線治療（放射線療法）においても、白血病や全身に転移したがん等には対応できないとされ、今後も抗がん剤を用いた化学療法はがん治療の重要な柱になると考えられる。

<研究の背景 2 : 細胞性粘菌と粘菌由来の抗がん剤候補物質について>

細胞性粘菌（以後、「粘菌」）は、世界中の森の落ち葉の下などに生息する土壤微生物で、カビ（真菌）に良く似た子実体を形成する〔参考図 1 の写真は粘菌の一種『キイロタマホコリカビ』の子実体〕。しかし、粘菌類と真菌類（カビ・キノコ類）は、進化的にかけ離れた生物群である。真菌類が創薬資源として人類に貢献している（ペニシリン等、多くの薬剤が発見されている）一方で、創薬資源としての粘菌類の研究は遅れている。近年、大島、菊地、久保原らは、「粘菌類=未開拓薬剤資源（新たな薬剤の宝庫）」と位置づけ、研究を進めており、実際に、いくつかの薬剤候補物質を報告してきた。



キイロタマホコリカビの子実体

DIF-1
CCCCCCCC(=O)c1c(O)c(Cl)c(OC)c(O)c1Cl

DIF-3
CCCCCCCC(=O)c1c(O)c(Cl)c(OC)c(O)c1

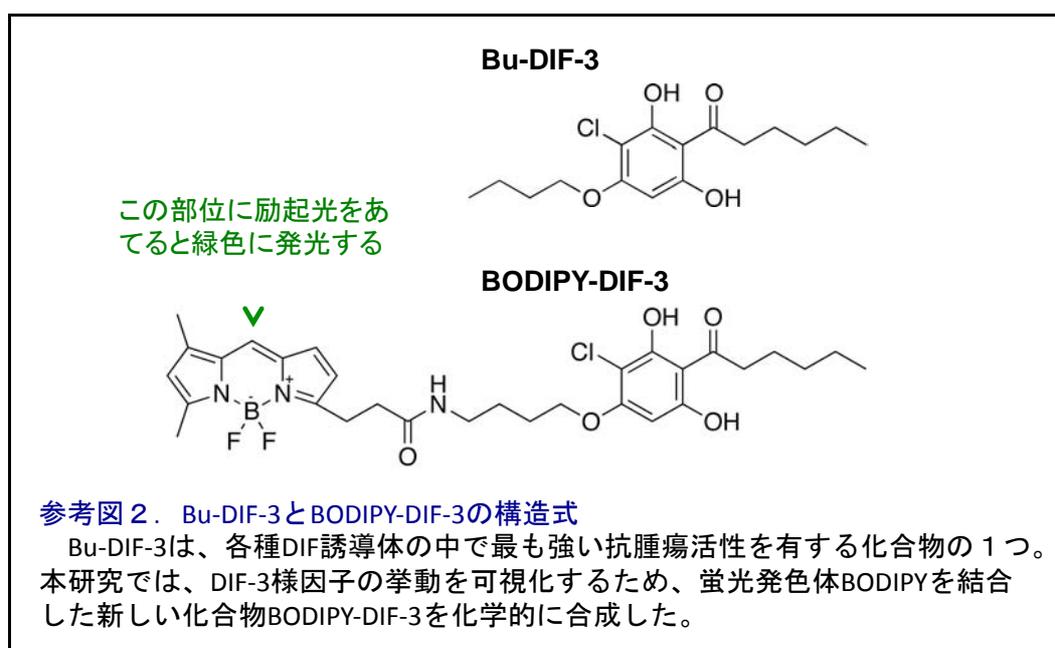
参考図 1. キイロタマホコリカビの子実体（写真）と DIF-1 と DIF-3 の構造式
粘菌の一種『キイロタマホコリカビ（和名）=*Dictyostelium discoideum* ディクテオステリウム ディスコイディウム（学名）』は、カビに良く似た 1-2 mm 程の淡黄色の子実体（丸い孢子塊と細長い柄から成る）を形成する。粘菌の和名には「カビ」が付くが、粘菌はカビではない。
DIF-1 と DIF-3 は、キイロタマホコリカビの柄細胞分化誘導因子として発見された化合物だが、抗腫瘍活性（がん細胞の増殖を阻害する活性）も有している。

<研究の背景 3 : 粘菌由来の抗がん剤候補物質 DIF について>

これまでに報告された粘菌由来の薬剤候補物質の中でも「DIF-1」と「DIF-3」という物質〔参考図 1〕は、もっともよく研究されている抗がん剤の候補物質である。DIF-1

と DIF-3 は、1980 年代に英国の研究グループによって発見されたキイロタマホコリカビの分化誘導因子であり、もっぱら粘菌の発生学研究の対象にされていた。ところが、1990 年代になって、久保原らの研究グループは、DIF-1 と DIF-3 が抗腫瘍活性（がん細胞の増殖を抑制する活性）を有することを見出し、DIF をリード化合物（ヒント・素^{もと}になる化合物）とした新規抗がん剤の開発を目指し、研究を進めてきた。さらに、大島、菊地らの協力を得て 30 種類の DIF 誘導体（DIF の類似化合物）を合成し、それらの抗腫瘍活性を比較・検討した結果、Bu-DIF-3 [参考図 2] などのいくつかの DIF-3 誘導体が (DIF-1 とその誘導体よりも) 強力な抗腫瘍活性を有することを見いだした。

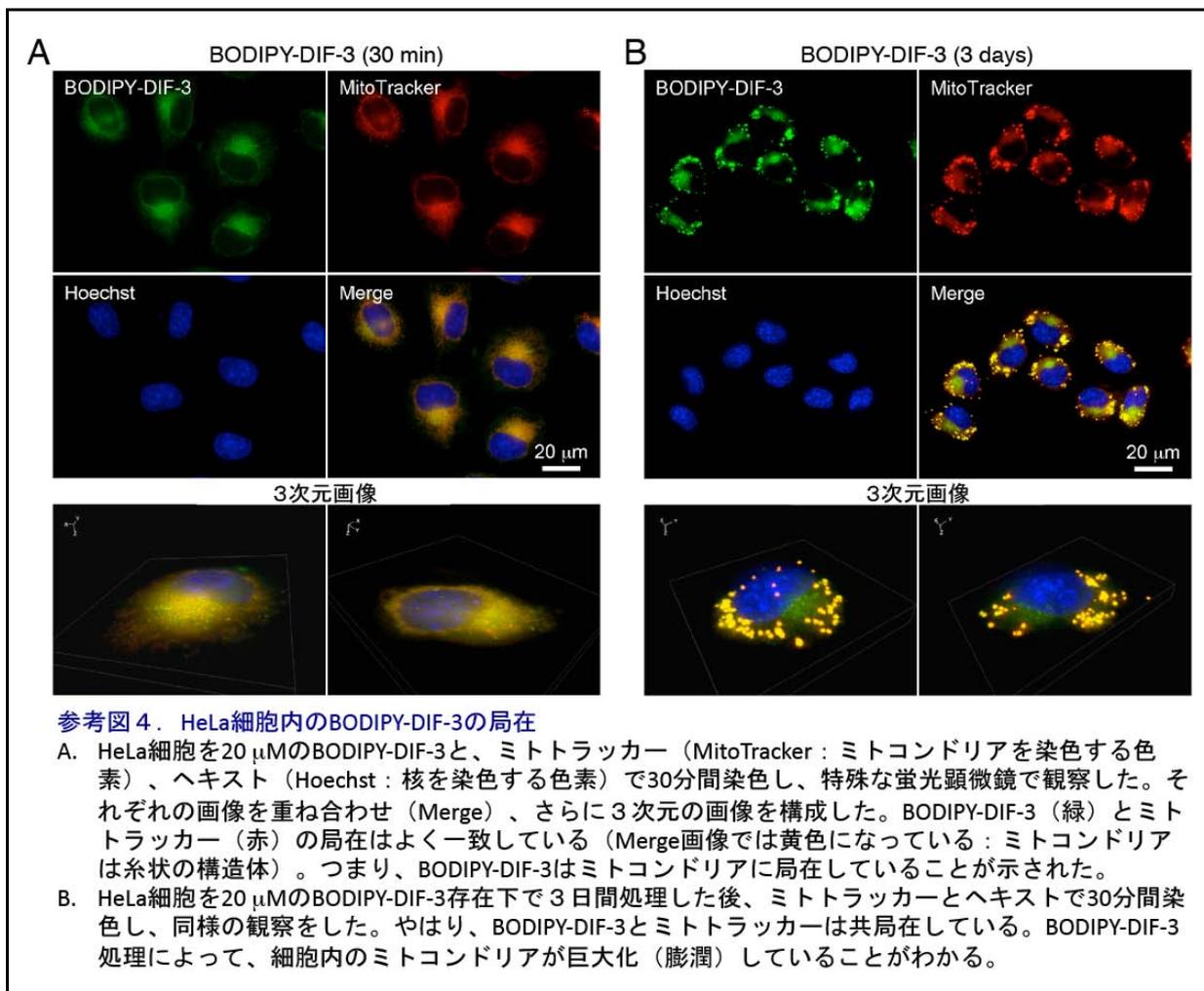
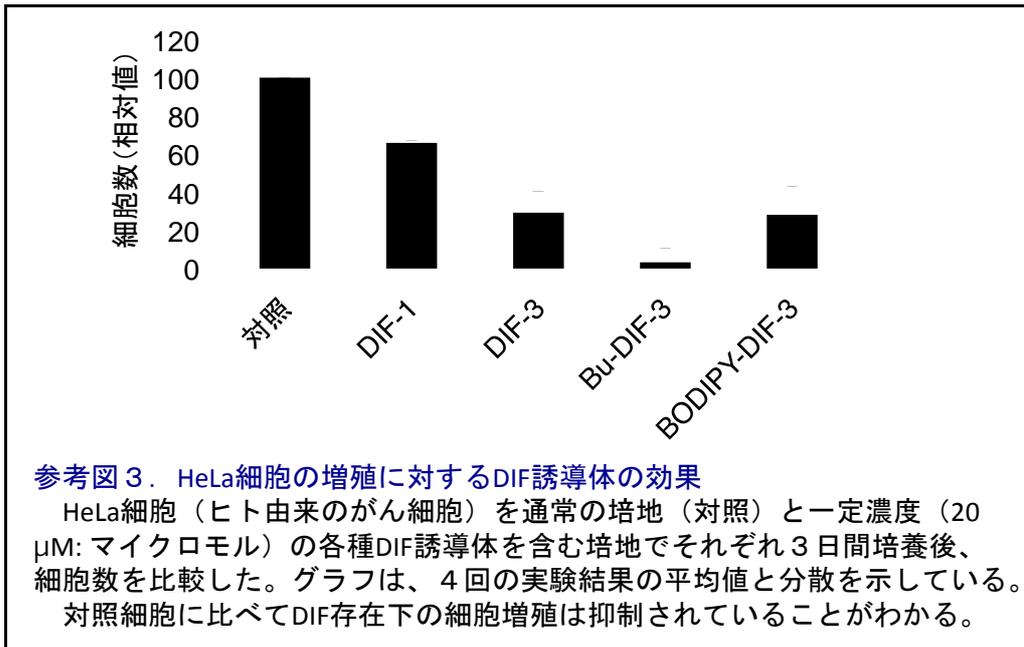
その後、久保原らの研究グループを中心に、これら DIF 様因子の作用機序の解明が進められ一定の進展をみせていたが、果たしてそれら化合物がどのような仕組みでがん細胞の増殖を抑制しているのか、その詳細（とりわけ、がん細胞内での DIF 様因子の挙動・局在）については未解明であった。



< 今回の研究成果 >

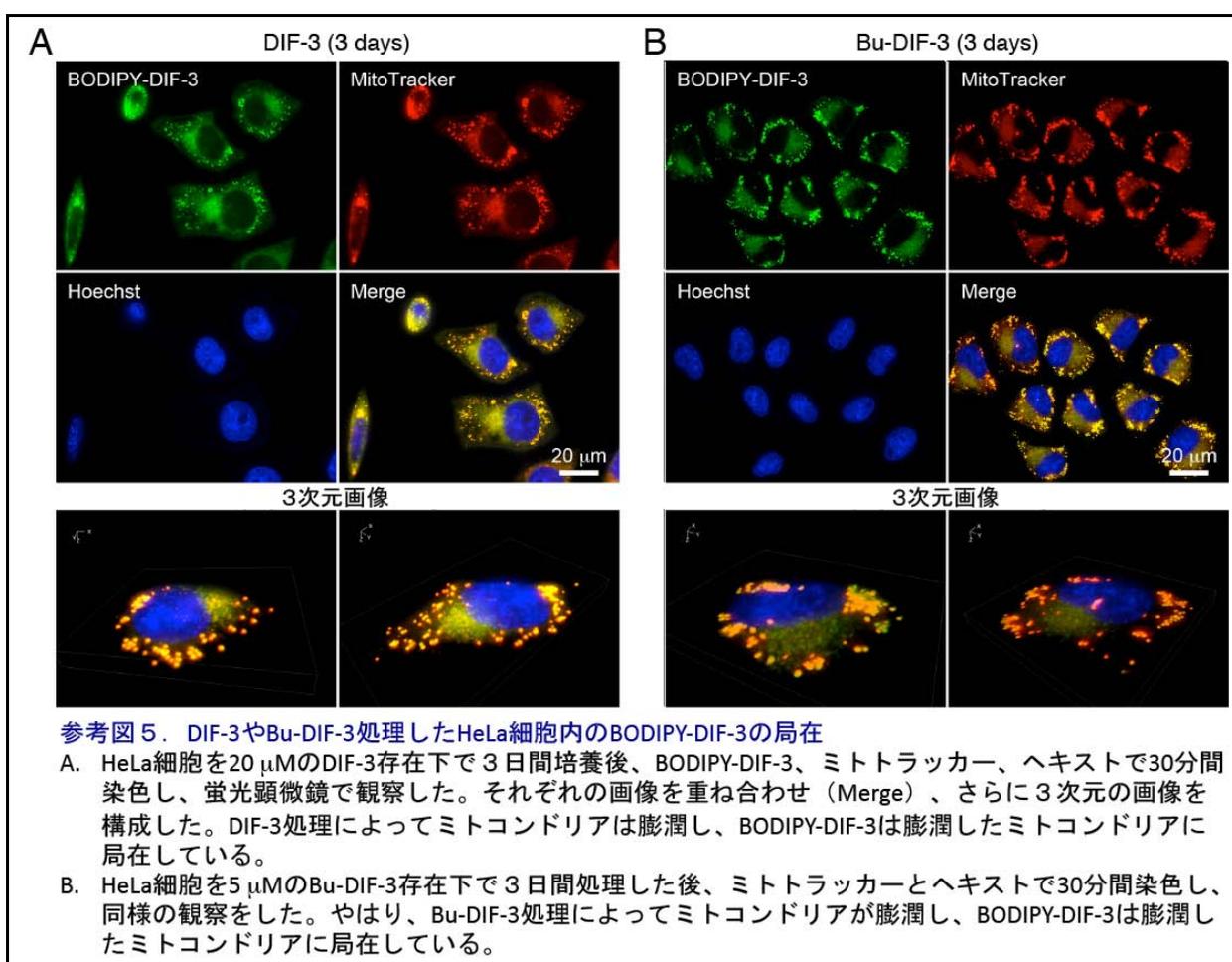
今回、久保原、大島、菊地、本間らの研究グループは、DIF 様因子の作用機序を解明することを目的として、蛍光発色体（BODIPY）と DIF-3 を結合した化合物（BODIPY-DIF-3）を化学的に合成した [参考図 2]。すなわち、この BODIPY-DIF-3 を利用して、これまで不明であった DIF 様因子の細胞内動態を可視化することで、DIF 様因子の作用機序の解明を試みた。

まず、久保原らは、BODIPY-DIF-3 が他の DIF 様因子と同様に HeLa 細胞（ヒト由来のがん細胞）の増殖を強く抑制することを確認した [参考図 3]。

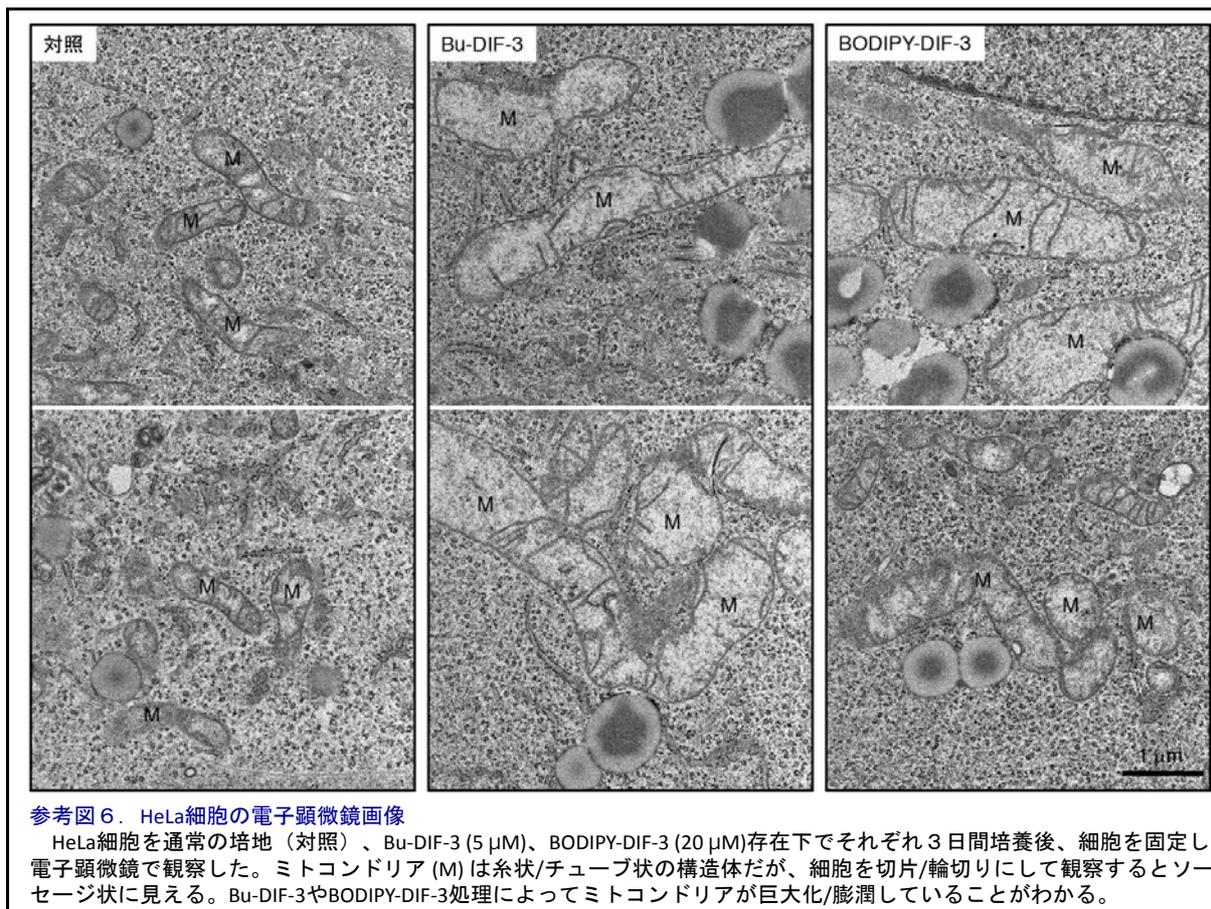


次に、HeLa 細胞を BODIPY-DIF-3 処理し、その動態を観察した（同時に、ミトコンドリアと核を特殊な色素で染色した）。その結果、HeLa 細胞に BODIPY-DIF-3 を添加すると、BODIPY-DIF-3 は即座（30 分以内）に細胞内に浸透し、ミトコンドリアに蓄積・局在することが明らかとなった [参考図 4 A]。さらに、HeLa 細胞を BODIPY-DIF-3 存在下で 3 日間培養すると、ミトコンドリアが巨大化（膨潤）し、それらミトコンドリアには BODIPY-DIF-3 が蓄積していることが示された [参考図 4 B]。

一方、HeLa 細胞を DIF-3 あるいは Bu-DIF-3 存在下で 3 日間培養した場合にも、ミトコンドリアが膨潤し、それらミトコンドリアにも BODIPY-DIF-3 が局在した [参考図 5]。



実際に HeLa 細胞内のミトコンドリアの形態がどのように変化しているかどうかを電子顕微鏡で観察した結果、HeLa 細胞を Bu-DIF-3 あるいは BODIPY-DIF-3 存在下で 3 日間培養すると、ミトコンドリアが著しく巨大化していることが明らかとなった [参考図 6]。



最後に、マウス肝臓から調整したミトコンドリアの酸素消費活性に対するDIF様因子の効果を比較検討した。その結果、DIF-3、Bu-DIF-3、BODIPY-DIF-3などのDIF様因子は、ミトコンドリアの酸素消費を促進すること、即ち、ミトコンドリアの正常機能を妨害することが示された。また、DIF様因子によるミトコンドリア機能阻害活性とHeLa細胞増殖阻害活性はよく対応していること、既知のミトコンドリアの機能阻害剤もHeLa細胞の増殖をよく阻害すること等も明らかとなった。

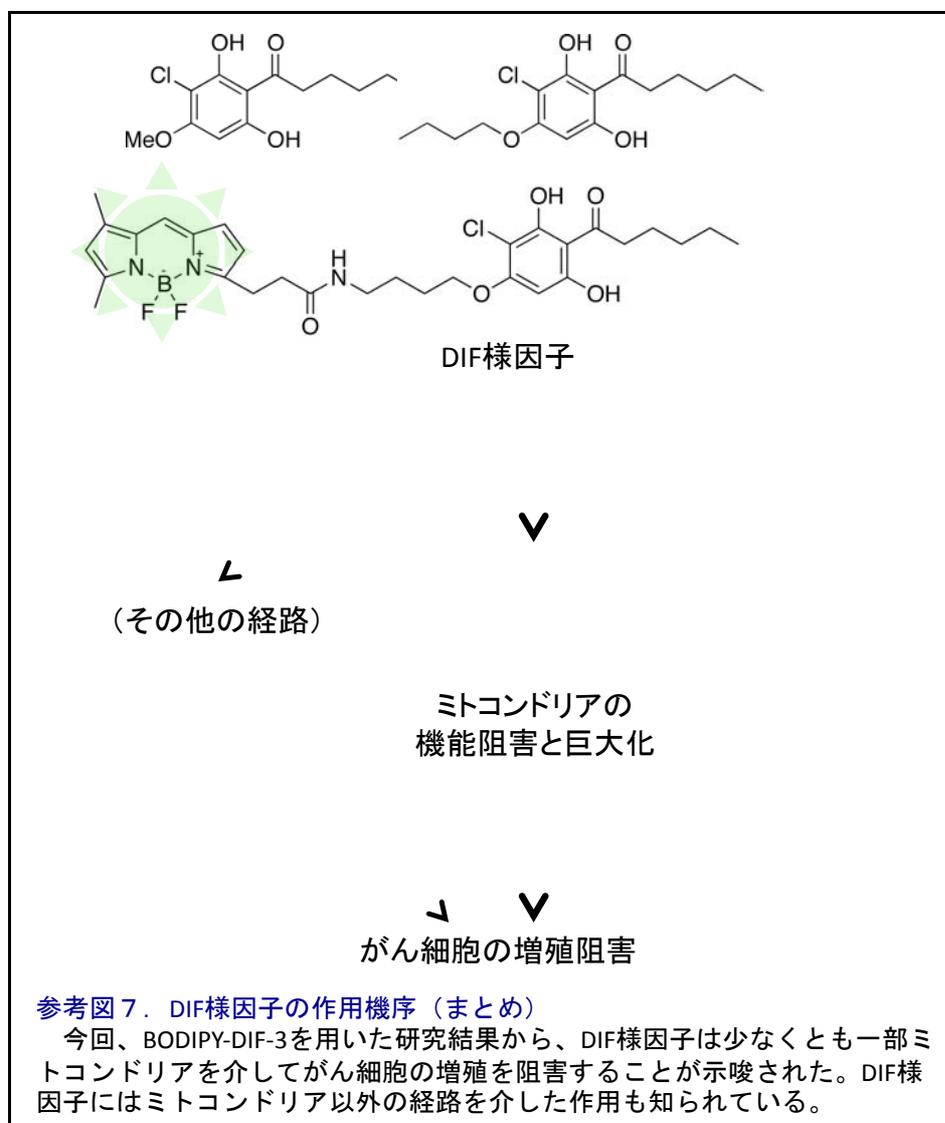
<研究のまとめと今後の展望>

今回の研究結果から、BODIPY-DIF-3（そして、DIF-3、Bu-DIF-3などのDIF様因子）は、1）細胞膜を透過してミトコンドリアに局在すること、2）ミトコンドリアの機能を妨害し、ミトコンドリアを膨潤させること、そして、3）少なくとも一部、ミトコンドリア（の機能阻害）を介してがん細胞の増殖を阻害すること等が示唆された[参考図7]。

近年、既存の抗がん剤に加え、ミトコンドリアの機能を阻害する薬剤を（補助薬として）利用する「ミトコンドリアを標的としたがん化学療法 (mitochondria-directed chemotherapy)」が新たながん治療戦略として期待されている（がん細胞の死滅にミトコンドリアが関与していること、がん細胞と正常細胞では代謝状態が異なること、

抗がん剤耐性の多くの固形癌のミトコンドリアである種のタンパク質が高発現していること等がこの治療戦略の論拠となっている)。今回の結果は、ミトコンドリアを狙い撃ちする新たな抗がん剤開発のためのリード化合物としてDIF様因子が役立つ可能性を示唆している。また、DIF様因子は、ミトコンドリア以外の経路を介して抗腫瘍活性を発揮することも示されており、DIF様因子は単剤でも強力な抗がん剤として臨床応用できることが期待される。現在、がん細胞の浸潤・転移に対するDIF様因子の効果も検討中である。

今後は、さらに詳細なDIF様因子の作用機序を明らかにしてゆくと同時に、正常細胞に対する毒性の検討等を進めながら、より有効な（抗腫瘍活性が強く、副作用の少ない）DIF誘導体の開発を目指す予定である。



以上