

京都大学	博士（医科学）	氏名	住谷 瑛 理 子
論文題目	Cell-Morphology Profiling of a Natural Product Library Identifies Bisbromoamide and Miuraenamide A as Actin-Filament Stabilizers (細胞形態変化に基づく天然物ライブラリーのプロファイリングによるアクチン線維安定化化合物ビスブロモアミドおよびミウラエナミド A の同定)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>今日までに生理活性を有する天然有機化合物が数多く発見されており、医薬品や生物学的研究試薬として利用されている。一方で単離、構造決定されたものの生体内での標的分子や活性発現のメカニズムが解析されていない天然物や、生理活性の評価自体がなされたことのない天然物も多数存在する。これら作用機序不明の生理活性天然物や生理活性の有無が明らかでない天然物を生物学的観点から研究することで、創薬研究や生物学的研究に有用な化合物が見つかる可能性がある。</p> <p>約 400 種類の天然物から成る化合物ライブラリーを培養細胞に対して作用させ、細胞形態を観察した。その結果、化合物処理 1 時間以内に HeLa 細胞の核を突出させる形態変化を誘導する化合物が 9 種類見つかった。そのうち 7 種類の化合物が、細胞骨格タンパク質アクチンの既知阻害剤であり、残りの 2 種類は標的分子が未同定の海洋天然物 bisbromoamide および miuraenamide A であった。このことから、bisebromoamide および miuraenamide A もアクチンに作用するのではないかと予想した。まず <i>in vitro</i> で bisebromoamide および miuraenamide A のアクチンに対する影響を検討したところ、2 つの化合物はともにアクチン線維の脱重合抑制活性を示した。次に、bisebromoamide の細胞内での局在を調べるために bisebromoamide の蛍光誘導体を合成した。この蛍光誘導体はアクチン線維のプロープとして汎用される phalloidin-rhodamine と HeLa 細胞内において共局在した。この結果は、bisebromoamide が細胞内においてアクチン線維に局在することを示唆する。</p> <p>次に HeLa 細胞の核突出誘導活性がアクチン阻害剤に特有な活性であるかどうかを検討した。アクチンを標的としない細胞毒性化合物 13 種類の HeLa 細胞に対する作用を調べたところ、いずれの化合物もアクチン阻害剤様の細胞形態変化を誘導しなかった。この結果から、核突出誘導活性はアクチン阻害剤特有であると判断した。</p> <p>アクチン阻害剤が HeLa 細胞の核の突出を誘導することを利用して、天然物の粗抽出物からアクチン阻害剤を単離できるかを試みた。沖縄で採取した 11 種類の海綿から抽出液を調製し、HeLa 細胞の形態に与える影響を調べたところ、2 種類の抽出液がアクチン阻害剤様の細胞形態変化を誘導した。この 2 種類の抽出液を核突出誘導活性を指標に精製したところ、pectenotoxin-2 および lyngbyabellin C が単離された。Pectenotoxin-2 は既知アクチン重合阻害化合物である。一方、lyngbyabellin C のアクチン阻害活性の有無は不明だったので <i>in vitro</i> でのアクチンに対する作用を調べたところ、lyngbyabellin C はアクチン線維の脱重合を抑制した。これらのことから、HeLa 細胞の核突出誘導活性を指標にすることで天然物の粗抽出物からアクチン阻害剤を単離できることがわかった。</p> <p>以上の結果から、HeLa 細胞の核突出誘導活性を指標とするアクチン阻害剤のスクリーニング系を提案する。このスクリーニング系は簡便で感度がよく、化合物処理後約 1 時間の早さで結果が得られ、精製された化合物のライブラリーからも天然物粗抽出液からもアクチン阻害剤を見つけることが可能である。今後このスクリーニング系を用いてさらに新規アクチン阻害剤を探索することで、細胞イメージングのための小分子アクチンプロープの供給などに役立つことが期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

今日までに 数多くの生理活性天然物が発見されており、医薬品や生物学的研究試薬として利用されている。一方で作用機序不明の生理活性天然物や生理活性の有無が明らかでない天然物も多数存在することから、構造既知の天然物でも生物学的観点から研究することで創薬研究や生物学的研究に有用な化合物が見つかる可能性がある。本研究では約400種類の構造既知天然物から成る化合物ライブラリーを培養細胞に作用させ、細胞形態を観察した。その結果、既知アクチン阻害剤がHeLa細胞において核の突出を特徴とする形態変化を誘導することを見出し、同様の細胞形態変化を誘導した標的分子未同定の海洋天然物bisbromoamideおよびmiuraenamide Aを新規アクチン脱重合阻害剤として同定した。さらに、アクチン阻害剤が特徴的な細胞形態変化を誘導することを利用し、天然物の粗抽出物からアクチン阻害剤を精製できるかを試みたところ、海綿抽出物からアクチン阻害剤pectenotoxin-2 およびlyngbyabellin Cが単離された。これらの結果はHeLa細胞の核突出誘導活性を指標とすることで化合物ライブラリーや天然物粗抽出物からアクチン阻害剤をスクリーニングできることを示唆する。

以上の研究は標的タンパク質が不明であった天然物の標的解明に貢献し、アクチンを標的とする新たな化合物の探索に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成23年4月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降