



Title	Studies on Migration-inhibition Activity of a 3,12-Unsubstituted Fusicoccin Derivative
Author(s)	原ノ園, 祐
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/34066">https://doi.org/10.18910/34066</a>
rights	© 2016 Wiley-VCH Verlag GmbH &Co. KGaA, Weinheim
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

氏名 ( 原ノ園 祐 )

論文題名

Studies on Migration-inhibition Activity of a 3,12-Unsubstituted Fusicoccin Derivative  
(3,12位無置換型フシコクシン誘導体の遊走阻害活性に関する研究)

## 論文内容の要旨

コチレニン A (CN-A) 及びフシコクシン (FC) の構造活性相関研究から、アグリコン骨格中の水酸基の位置 (3 位及び 12 位) 及びその有無が、これらの抗がん活性に重要であることが示されてきた。そして、CN/FC 類が 14-3-3 たんぱく質と種々のリン酸化たんぱく質のたんぱく質-たんぱく質間相互作用 (PPI) を安定化することから、抗がん活性も 14-3-3 PPI の変調を介していることが予想された。しかし、個々の活性と直接的に関連する 14-3-3 PPI の同定には至っていない。一方、3,12 位無置換型フシコクシン誘導体である ISIR-005 は、固形がん細胞に対する単剤での細胞死誘導という特有の活性を有する。本研究では、ISIR-005 に特有のこの活性に着目し、本活性に係る 14-3-3 PPI の同定を含む作用機序解明を目的とした。

まず、ISIR-005 による細胞死は Caspase-8 によって誘導され、細胞接着及び遊走阻害も同時に観察されることから、足場依存的アポトーシスであるアノイキスであることを明らかにした。その過程での小胞形成から細胞骨格の再構成への関与を想定し、細胞骨格を制御している Rho/ROCK 信号伝達系に着目した。そして、①この信号伝達系にあって細胞遊走を促進する Rnd3 が ISIR-005 によって核内に移行する②14-3-3 $\zeta$  も同時に核移行し Rnd3 と核に共局在化する③14-3-3 PPI に必要な Rnd3 のリン酸化を阻害するとこれらの現象が抑制されることより、ISIR-005 が 14-3-3 PPI を介して Rnd3 の核移行を促し、結果として Rho/ROCK 信号伝達系を活性化し、ストレスファイバーを増加させることが細胞遊走阻害 (pasting 効果) の機序であることを見出した。in silico シミュレーションから、3,12 位無置換型 FC 誘導体のみが 14-3-3/Rnd3 PPI を安定化しうることも示唆された。FC 誘導体を与える表現型と、その標的分子候補を明確に関連づけて提唱する初例である。

一方、ISIR-005 の長時間暴露により繊維状アクチンの核集積に伴い、ストレスファイバー、焦点接着斑及び密着結合の構造損失が認められたことから、ISIR-005 は細胞剥離を誘導し得る。また、ISIR-005 により Caspase-8 の活性化に必要な DISC (Death inducing signaling complex) 形成が促進されることを見出した。p53 の活性化が要因であることは、p53 の転写産物の増加及び核局在により確認した。すなわち、p53 の活性化に伴う DISC 形成促進と細胞骨格構造の喪失による細胞剥離が、ISIR-005 によるアノイキス誘導の機序であると結論した。この活性に対する分子標的は未解明だが、やはり ISIR-005 の 14-3-3 たんぱく質を介した PPI 制御が想定される。

本研究で、ISIR-005 の細胞遊走阻害活性における標的分子候補として Rnd3 を初めて同定し、新規細胞遊走阻害機序としての pasting 効果を見出した。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 原ノ園 祐 )	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教 授 加 藤 修 雄
	副 査 教 授 村 田 道 雄
	副 査 教 授 久 保 孝 史
<b>論文審査の結果の要旨</b>	
<p>本論文は、作用機序が明確ではなかった種々の抗がん活性を有するジテルペン配糖体、コチレニン (CN) 及びフシコクシン (FC) 誘導体の中で、そのアグリコン部の 3 位および 12 位に水酸基を持たないことを構造的特徴とする ISIR-005 を研究対象とし、3 位水酸基あるいは 12 位水酸基を有する類縁体には見られない特徴的活性の作用機序解明を目的として展開した研究成果を纏めたものである。</p> <p>まず、ISIR-005 (3,12 位無置換型 FC 誘導体) が示す特徴的な活性として、固形がん細胞 (A549: ヒト肺胞基底上皮腺癌細胞) に対する単剤での細胞死誘導および遊走阻害活性を見出した。そして、これらの活性が細胞骨格を制御している Rho/ROCK 信号伝達経路に影響を与えた結果であるとの予備的実験事実に基づき、作用機序解明研究を遂行した。</p> <p>その結果、①この信号伝達系にあって細胞遊走を促進する Rnd3 が ISIR-005 によって核内に移行する②14-3-3とも同時に核移行し Rnd3 と核に共局在化する③14-3-3 たんぱく質との会合に必要な Rnd3 のリン酸化を阻害するとこれらの発現形が抑制されることを明らかにした。以上の事実から、ISIR-005 が 14-3-3/Rnd3 会合体を安定化することで Rnd3 の核移行を促進し、結果として Rho/ROCK 信号伝達系を活性化し、ストレスファイバーを増加させることが細胞遊走阻害 (pasting 効果) の機序であると提唱した。FC/CN 類がこの種の 14-3-3 会合体を安定化することは既知であるが、in silico シミュレーションから、3,12 位無置換型 FC 誘導体のみが 14-3-3/Rnd3 会合体を安定化しうることも示した。FC/CN 誘導体を与える表現形と、その標的分子候補を明確に関連づけて提唱する初例である。</p> <p>一方、ISIR-005 の長時間暴露が繊維状アクチンの核集積を齎し、ストレスファイバー、焦点接着及び細胞接着斑の構造損失を惹起することも明らかにしている。この効果は、遊走阻害に寄与すると共に、細胞剥離を促進する。加えて、ISIR-005 により Caspase-8 の活性化に必要な DISC (Death inducing signaling complex) 形成が促進されることを見出し、p53 の核局在及びその転写産物の増加を確認することで、その要因が p53 の活性化にあることを明らかにした。そして、細胞骨格構造の喪失による細胞剥離と p53 の活性化に伴う DISC 形成促進が、ISIR-005 のもう一つの特徴的活性である細胞死誘導の機序であり、細胞死は足場依存的アポトーシスであるアノイキスによると結論した。</p> <p>以上、本研究で、Rnd3 が ISIR-005 の細胞遊走阻害活性における標的分子候補であることをしめすとともに、新規細胞遊走阻害機序としての pasting 効果を見出した。さらに、細胞死誘導活性についても重要な知見を得た。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>	