

天然物化学を基盤としたケミカルバイオロジー研究

研究代表者 中尾 洋一
(先進理工学部 化学・生命化学科 教授)

1. 研究課題

天然化合物にはユニークな構造や生物活性を有するものも多数知られているが、医薬品リードの探索源としては十分にそのポテンシャルが発揮されているとはいえない。この理由のひとつとして、これまで新規な構造を有する化合物を見出すことに研究の重点が置かれすぎてきたことがあげられ、他分野の研究者に使ってもらえるような生物活性をアピールするための準備ができていないことが挙げられる。本研究プロジェクトは最新のアッセイ系と天然物化学を組み合わせ生命科学研究になくてはならない試薬・医薬を見出すことで、天然物化学という分野を21世紀の科学にふさわしい最先端生命科学研究の柱の1つとしての再活性化し、日本のケミカルバイオロジー研究の発展に貢献することを目的とする。

さらに、これらの天然化合物を作り出している海洋生物や発酵食品中の共生微生物に注目し、共生微生物の生態や化合物の生合成に関わる遺伝子に関する知見を深める。

一方、本来は自然界に存在しなかった人工的につくられた化学物質が、われわれの体を与える影響について最新のアッセイ系を用いて影響の評価を行い、その影響を緩和できるような天然由来の化学物質を幅広く探索することを目的とする。

2. 主な研究成果

2.1 海洋無脊椎動物の採集

瀬戸内海、愛媛県宇和島市、高知県宿毛市などの国内各海域において、海綿動物、原索動物（ホヤ類）、腔腸動物（軟サンゴ類）を中心に海洋無脊椎動物計 96 検体を採集した。これらのサンプルから、医薬品探索研究に用いるスクリーニング用サンプルを調製した。

2.2 海洋由来天然物 ageladine A 類縁体の神経分化制御活性

当研究室ではこれまで、海洋天然化合物 ageladine A のピリジン誘導体 (2)、M1 位置換新規類縁体 (3b、3i、3l) および Dyrk1A キナーゼ阻害剤 harmine を対象に、神経幹細胞のニューロン分化制御活性を評価してきた。

本年度は、これらの化合物のニューロン分化制御活性に加えてアストロサイト分化制御活性を評価するべく、1%ウシ胎児血清を含む D-MEM/F12 培地を用いた自由分化条件における神経分化制御活性試験を行った。その結果、Dyrk1A 阻害活性を有するピリジン誘導体 (2) および harmine は化合物非添加時に比べてニューロン分化率が増加し (122±8 %、112 ±5 %)、かつアストロサイト分化率が減少した (66±4 %、67±5 %)。一方、Dyrk1A 阻害活性を持たない新規類縁体 3b および 3l はニューロン分化促進活性を示したものの (129±6 %、121±5 %)、アストロサイト分化には影響を与えなかった。また、新規類縁体 3i はニューロン分化阻害活性を示し (78±8 %)、3b、3l

と同様にアストロサイト分化には影響を与えなかった。

以上より、新規類縁体の神経分化制御は Dyrk1A を介さないこと、さらにはピリジン誘導体 (2) の M1 位を置換したことで、その作用がよりニューロン分化特異的にリモデリングされたことが分かった。

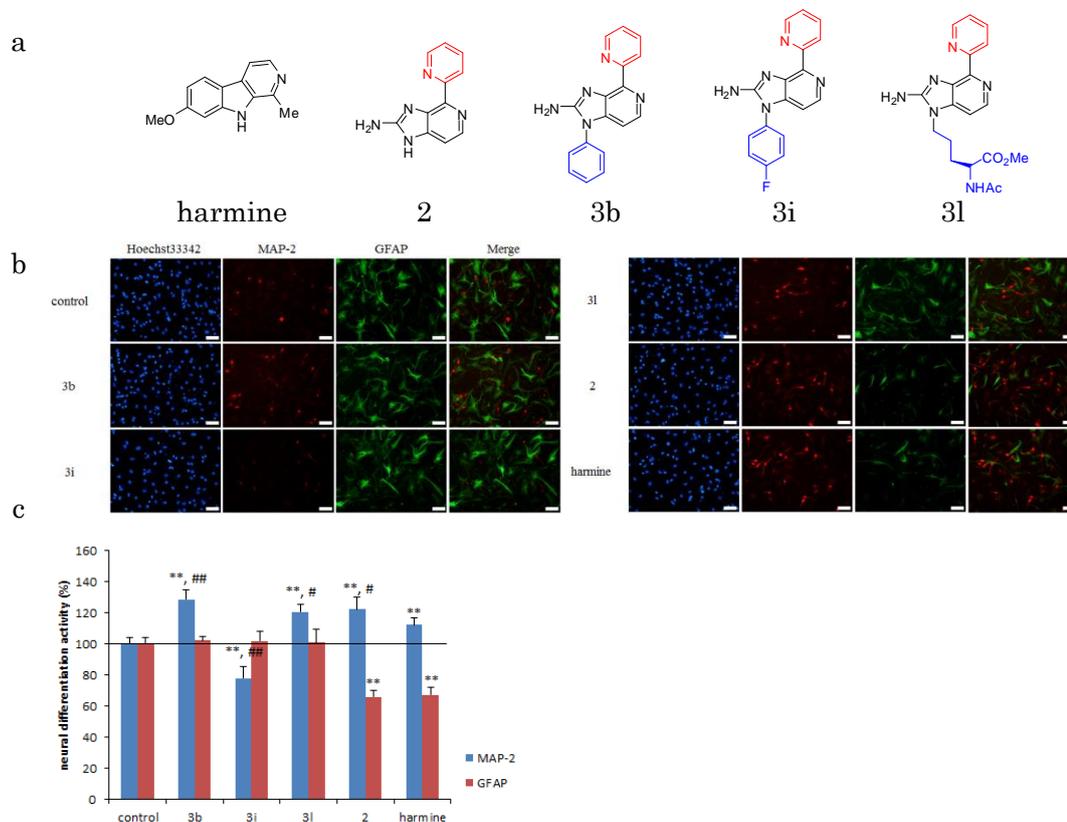


図1 自由分化系における ageladine A 誘導体の神経分化制御活性試験結果

a : 被験物質の構造、b : 免疫染色結果 (赤 : MAP-2、ニューロンマーカー、緑 : GFAP、アストロサイトマーカー、青 : Hoechst33342、細胞核、スケールバー : 50 μ m)、c : 化合物添加時の神経分化制御活性 (1 μ M, n=6, * p < 0.05 vs control, ** p < 0.01 vs control, # p < 0.05 vs harmine, ## p < 0.01 vs harmine)

2.3 医学・栄養学との連携による日本食の評価

食材は薬と違い、日常的に摂取するものであるため、たとえ体に良い機能を有していたとしても、その作用は日々の摂取によってようやく表れるような弱いものであると考えられる。そのように弱い活性を感度よく検出するには、医薬品の探索で用いるような従来の生理活性評価法では十分ではないと考えられる。

そこで、遺伝子発現のスイッチング機構として注目されている、エピジェネティックな遺伝子発現制御機構のひとつであるヒストン修飾の変化を指標として、さまざまな食材について作用を調べてみた。まず、日本食に特徴的な 196 の食材について抽出し、抽出物をさらに逆相カラムによって 6 つの画分に分け、合計 1176 のスクリーニング用の画分を調製した。これらのスクリーニングサンプルに対して、6 種類のヒストン修飾レベルを免疫染色法によって定量解析して、食品中の成分によるヒストン修飾制御活性を調べた。

このスクリーニングの結果、活性を示した食材エキス画分から活性本体の精製と同定を試み、10

種類の活性本体を同定した。一方、LC-MS によるメタボローム解析法を用いて、味噌中に含まれる特徴的なヒストン修飾 (H4K5ac) 抑制作用を示す活性成分の絞り込みを行ったところ、活性本体の同定を効率よく行うことができた。

3. 共同研究者

寺田泰比古 (先進理工学部 化学・生命科学科 教授)

鹿又宣弘 (先進理工学部 化学・生命科学科 教授)

小出隆規 (先進理工学部 化学・生命科学科 教授)

細川誠二郎 (先進理工学部 応用化学科 准教授)

胡桃坂仁志 (先進理工学部 電気・情報生命工学科 教授)

岡野俊行 (先進理工学部 電気・情報生命工学科 教授)

4. 研究業績

4.1 学術論文

- 1) Nakaoka, S.; Sasaki, K.; Ito, A.; Nakao, Y.; Yoshida, M. A Genetically Encoded FRET Probe to Detect Intranucleosomal Histone H3K9 or H3K14 Acetylation Using BRD4, a BET Family Member. *ACS Chem. Biol.* in press DOI: 10.1021/cb501046t
- 2) Arai, D.; Hayakawa, K.; Ohgane, J.; Hirose, M.; Nakao, Y.; Tanaka, S.; Shiota, K. An epigenetic regulatory element of the Nodal gene in the mouse and human genomes. *Mech. Dev.*, 136, 143-154, (2015).

4.2 総説・著書

4.3 招待講演

中尾洋一 基調講演『海洋毒・海洋生理活性物質の探索研究へのMSの応用』 第63回 質量分析総合討論会 つくば 2015年6月17日

4.4 受賞・表彰

4.5 学会および社会的活動

Co-organizer

『Symposium (# 151): Frontiers in Chromatin Biology and Chemical Epigenetics/Epigenomics』
2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu, Hawaii, Dec. 15-20, (2015).

5. 研究活動の課題と展望

本研究を通して、細胞分化やヒストン修飾に影響を及ぼす化合物の同定・解析を行ってきた。今後は、これら活性化合物の作用メカニズム解析等を行い、天然物化学・ケミカルバイオロジー研究分野のさらなる発展を目指す。