

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	北川 光洋
主 論 文 題 目： Metabolomic Identification of the Target of the Compounds Modulating Filopodia Protrusion (フィロポディア形成制御物質の探索とメタボローム解析を用いた標的同定)				
(内容の要旨)				
<p>小分子化合物は多彩な構造とユニークな活性を有することから、小分子化合物を用いて生命現象を解析するケミカルバイオロジーが注目されている。このケミカルバイオロジーを展開する上で重要なのが生理活性物質を持った小分子化合物の取得とその標的分子の同定である。このような背景の下、筆者らはまずがん転移に関与するフィロポディア形成を阻害する物質を微生物資源より探索した。その結果、グルコピエリシジン A(GPA)とピエリシジン A(PA)の併用によりフィロポディア形成を強力に抑制することを見出した。PA はミトコンドリア呼吸鎖阻害剤であることが知られているが、GPA の作用機構はこれまで不明であった。そこで、GPA と PA の併用によるフィロポディア形成阻害機構を解析するため、我々は未知の GPA の作用機構解明を行った。まず標的既知の化合物ライブラリーより GPA と同様に PA との併用によりフィロポディア形成を阻害する化合物を探索したところ、解糖系阻害剤 2-デオキシグルコースが目的の活性を有することを見いだした。このことから GPA も解糖系を抑制することが推測され、メタボローム解析によって、これまで作用機構の不明であった GPA がグルコーストランスポーターに作用し、そのグルコースの取り込み能を抑制することにより解糖系を抑制することを見出した。以上より PA と GPA を併用すると、それぞれミトコンドリア呼吸鎖と解糖系を抑制することにより細胞内 ATP エネルギーを顕著に減少させ、フィロポディア形成を相乗的に阻害することが示唆された¹。</p> <p>一方、がんの解糖系は、古くから亢進している事が知られており、従ってがんの解糖代謝を抑制する物質は有用な抗腫瘍剤となりうる。今回筆者は、細胞レベルで簡便にがんの解糖系抑制物質を探索する実験系を構築した。この実験系を用いて、カルバ糖ライブラリーより解糖系抑制物質を探索したところ、2 化合物がヒットした。この 2 化合物はいずれも、ミトコンドリア呼吸鎖阻害剤との併用によりがん細胞の細胞内 ATP 量を相乗的に減少させたことから、実際に細胞内で解糖系を抑制していることが確認された。さらにこの 2 化合物はいずれもグルコースの細胞内への取り込みステップを抑制する事によりがんの解糖系を抑制する事を明らかにした²。</p>				
1 Kitagawa, M. et al., <i>Chem. Biol.</i> (2010) 17 , 989-998				
2 Kitagawa, M. et al., <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i> , (in press)				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Fundamental Science & Technology	Student Identification Number	SURNAME, First name KITAGAWA, Mitsuhiro
Title Metabolomic Identification of the Target of the Compounds Modulating Filopodia Protrusion		
Abstract Finding the unique bioactive compounds and the identification of their cellular targets are two major issues for the development of the chemical genetic study. In this study, the author describes the fighting to these two issues. In the course of the screening for the inhibitor against the filopodia formation, the author found that one cultured broth of <i>Lechevalieria</i> sp. 1869-19 showed the strong inhibition. Isolation of the active substances from the cultured broth of this strain revealed that two substances, glucopiericidin A (GPA) and piericidin A (PA) synergistically inhibited the filopodia formation. So far, the mode of action of GPA has not yet been clarified, however it was found that glycolysis inhibitor 2-deoxyglucose also showed the synergistic filopodia inhibition similarly to GPA, suggesting that GPA would be a glycolytic inhibitor. Indeed, metabolome analysis revealed that GPA decreased the cellular level of end-products in glycolysis by inhibiting either the step of glucose uptake or the subsequent step of glucose phosphorylation. Since GPA inhibited Glucose Transporter-mediated uptake of ³ H-labeled 2-deoxyglucose, it was indicated that GPA suppressed glycolysis via inhibition of Glucose Transporter. On the other hand, PA is known as the inhibitor of mitochondrial respiratory chain complex I, and co-treatment of GPA and PA decreased cellular ATP levels synergistically. Because the filopodia formation requires the ATP molecules, depletion of cellular ATP induced by GPA & PA might be a cause of inhibition of filopodia formation. ¹ On the other hand, to counteract active tumor glycolysis, the author developed a new convenient cell-based screening system to identify an inhibitor of glycolysis. Using this system, the author found two candidates of the glycolytic inhibitors from the synthetic Carbasugar library. In combination with the mitochondria respiratory inhibitor, these two candidates decreased intracellular ATP levels in a dose-dependent manner, indicating that they inhibited glycolysis. Furthermore, it was demonstrated that both inhibited glycolysis by suppressing the glucose uptake step in tumor cells. ² 1 Kitagawa, M. et al., <i>Chem. Biol.</i> (2010) 17 , 989-998 2 Kitagawa, M. et al., <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i> , (in press)		