

氏名	すぎやま しゅんすけ 杉山 俊輔
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成26年3月26日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	ディアリルペンタノイド型クルクミンアナログ、 GO-Y078の血管内皮細胞に対する薬効に関する研究
論文審査委員	主査 教授 石岡 千加史 教授 佐藤 靖史 教授 安田 純

## 論文内容要旨

### 1. 背景

クルクミンは抗腫瘍活性を有する食用色素である。しかし、生体内有用性が低いために臨床応用に至らず、活性を増強させたアナログの合成が盛んに行われている。柴田らが開発した新規のディアリルペンタノイド型クルクミンアナログはクルクミンの約50倍の抗腫瘍活性を有し、 $\beta$ -Catenin, Nuclear Factor- $\kappa$ B, Caspase 3などのがん遺伝子産物やアポトーシス関連分子を効率良く制御し、抗腫瘍活性を呈することが知られている。

### 2. 研究方法

GO-Y030、GO-Y078についてのスクリーニングにはヒト臍帯静脈内皮細胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells: HUVEC)のsproutingアッセイ、および*Xenopus*のtadpoleの血管新生の系を用いた。*In vitro*のHUVECの増殖抑制、アポトーシス誘導、創傷治癒モデル、チャンパーを用いた浸潤能分析で、さらなる検討を行った。血管新生に参与するシグナル伝達系分子の発現解析をウェスタンブロット、およびcDNA microarrayを用いて網羅的に解析した。HUVECのstress fiberとfocal adhesionの状態を免疫組織化学にて検討した。さらにGO-Y078の細胞内局在についてビオチン化したアナログであるbiotin-labeled GO-Y078(GO-Y086)で検討した。

### 3. 結果

sproutingアッセイおよび*Xenopus*アッセイによるスクリーニングで、ディアリルペンタノイド型クルクミンアナログGO-Y078には、既に臨床応用されている血管新生阻害剤sorafenibやsunitinibに匹敵する血管新生阻害作用があることが判明した。GO-Y078の血管新生阻害活性はHUVECの増殖抑制、細胞移動や浸潤の阻害、アポトーシス誘導能から判断すると、sorafenibやsunitinibと同等程度か、最大で20倍強い活性を呈した。そのメカニズムとして、まずvascular endothelial growth factor(VEGF)のシグナル伝達経路の中で、VEGF receptor-2、BRAF、ERKなどのリン酸化状態を阻害する活性を調べたが、GO-Y078の阻害活性はsorafenibやsunitinibよりも数倍から数百倍弱いことが判明した。しかし、GO-Y078はアクチンのstress fiber形成をsorafenibやsunitinibよりも低い濃度で抑制し、さらにGO-Y078はHUVECのfocal adhesionの形成や細胞接着を阻害し、anoikisと呼ばれる細胞死を誘導した。このメカニズムとして、免疫組織化学によってGO-Y078のheat shock protein 27とアクチンの共局在の阻害に参与することが示唆された。また、cDNA microarrayによる網羅的解析によってGO-Y078による細胞接着因子fibronectin 1の発現低下が関与する可能性が示唆された。

(書式12)

#### 4. 結語

GO-Y078はアクチンによる stress fiber の形成阻害や focal adhesion の形成阻害をメカニズムとする血管新生阻害剤である。GO-Y078 は血管新生の上流シグナルではなく、エフェクターを直接的に標的とする新しい種類の血管新生阻害剤といってよい。このメカニズムは複雑な血管新生シグナルの冗長性による効果不全や耐性化を打破する治療法となる可能性を有している。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 ディアリルペンタノイド型クルクミンアナログ、GO-Y078の血管内皮細胞に対する  
薬効に関する研究

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 臨床腫瘍学 分野

氏名 杉山 俊輔

申請者 杉山俊輔君は、クルクミンは抗腫瘍活性を有する新規のディアリルペンタノイド型クルクミンアナログ GO-Y078 の抗腫瘍活性の作用メカニズムを解明するために、ヒト臍帯静脈内皮細胞（Human Umbilical Vein Endothelial Cells : HUVEC）の sprouting アッセイ、および *Xenopus* の tadpole の血管新生の系を用いてこれらの化合物が血管新生阻害作用を有する可能性を明らかにした。この GO-Y078 の血管新生阻害活性は HUVEC の増殖抑制、細胞移動や浸潤の阻害、アポトーシス誘導能は既知の血管新生阻害剤である sorafenib や sunitinib と同等程度か、最大で20倍強い活性を有することを明らかにした。vascular endothelial growth factor (VEGF)のシグナル伝達経路の中で、GO-Y078 による VEGF receptor-2、BRAF、ERK などのリン酸化阻害活性は sorafenib や sunitinib よりも数倍から数百倍弱かったが、GO-Y078 はアクチンの stress fiber 形成を sorafenib や sunitinib よりも低い濃度で抑制し、さらに GO-Y078 は HUVEC の focal adhesion の形成や細胞接着を阻害し、anoikis を誘導することを明らかにした。この研究により、GO-Y078 はアクチンによる stress fiber の形成阻害や focal adhesion の形成阻害をメカニズムとする血管新生阻害剤であること、GO-Y078 は血管新生の上流シグナルではなく、エフェクターを直接的に標的とする新しい種類の血管新生阻害剤であることを新規に明らかにした。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。