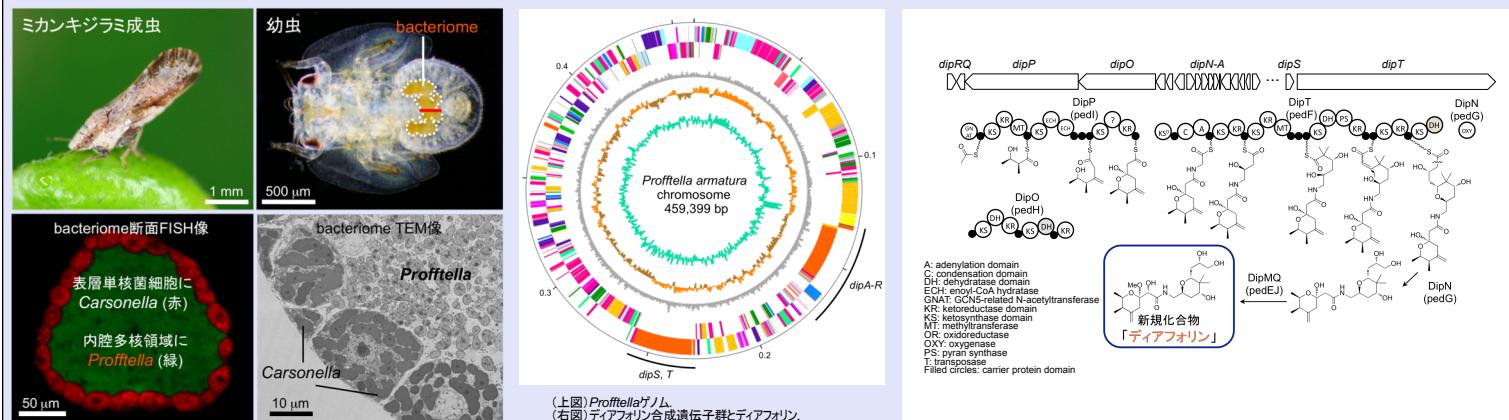


# 共生細菌由来二次代謝産物の獲得と機能解析

豊橋技術科学大学・エレクトロニクス先端融合研究所 中鉢 淳

私たちの研究室では、昆虫の「菌細胞内共生系」を材料に、①生物間融合機構の解明、②低環境負荷防除法の開発、③共生細菌からの有用遺伝子の獲得、を目指した研究を進めています。今回は③に関連する研究成果を報告する。柑橘類の重要害虫「ミカンキジラミ (*Diaphorina citri*, 半翅目・キジラミ上科)」は腹部体腔内に共生器官「bacteriome」を持ち、ここに2種類の共生細菌 *Candidatus Proftella armatura* (*Beta-proteobacteria*) および *Ca. Carsonella ruddii* (*Gammaproteobacteria*) を保有する。我々の先行研究により、次の事柄が明らかとなっていた: 1) *Proftella* は 460 kb の極小ゲノムを持ち、その 15% の広い領域を二次代謝関連遺伝子群が占める。2) *Proftella* は、同遺伝子群を用いて新規ポリケチド「ディアフォリン」を産生する。3) ディアフォリンは抗腫瘍活性を持つペデリンファミリーに属し、創薬シード化合物として有望である。

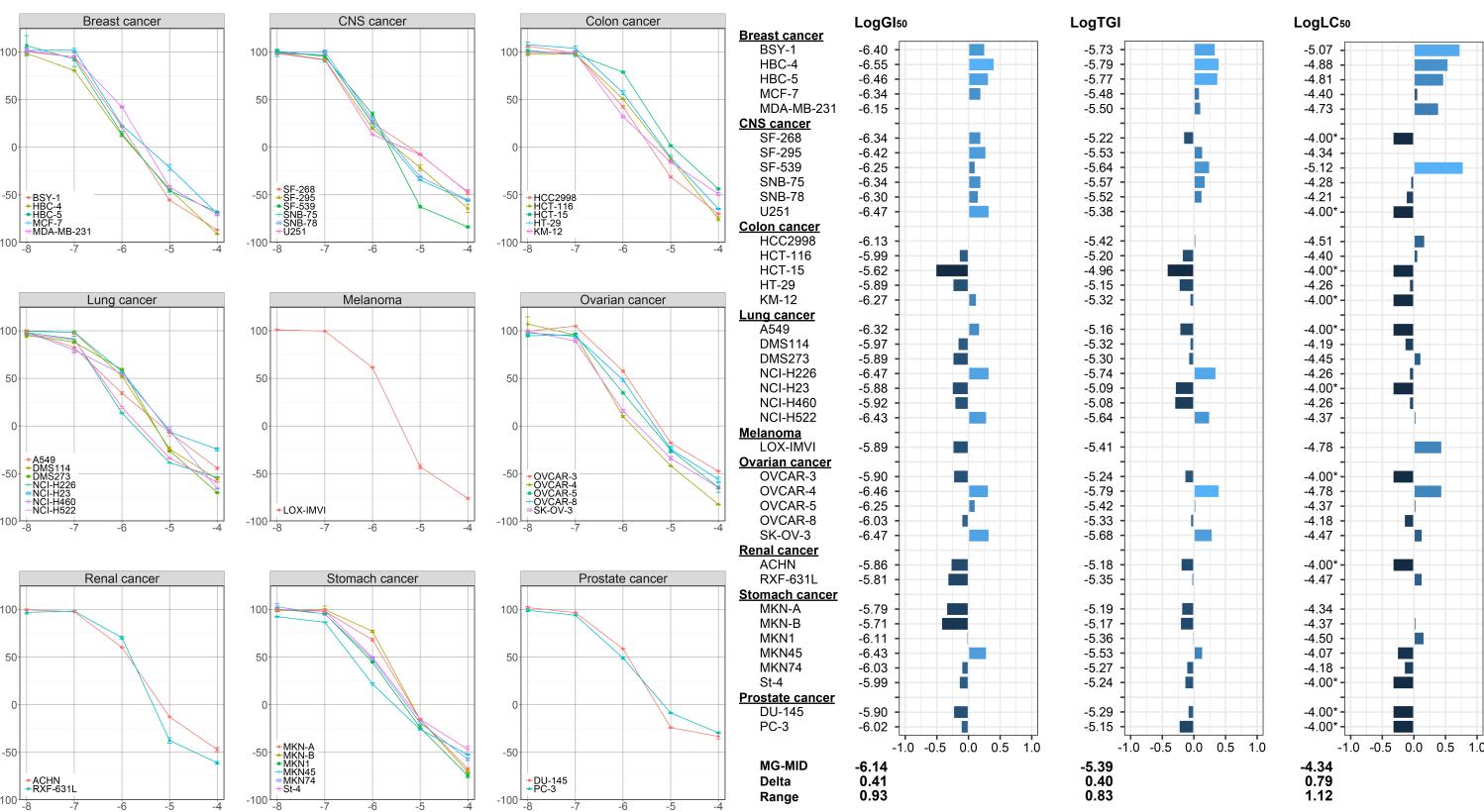
そこで今回我々は、ヒトがん細胞パネルを用いて、ディアフォリンの抗腫瘍活性を詳細に評価した。



## ディアフォリンの抗腫瘍活性評価

(PLOS ONE 2019, 14(6):e0218190)

肺がん7系、胃がん6系、大腸がん5系、卵巣がん5系、脳腫瘍6系、乳がん5系、腎がん2系、前立腺がん2系、メローマ1系の計39系によるヒト培養がん細胞パネルに対し、終濃度  $10^{-8}$ – $10^{-4}$ M のディアフォリンを投与し、スルホローダミンB (SRB) アッセイにより細胞量を追跡した（「正常細胞」は抗がん薬に対して極端な表現系を示す傾向があり、対照として不適切であるため、解析対象に含まれない）。



(左図) 39系のヒトがん細胞の対ディアフォリン用量反応曲線。37°C、24時間の前培養後、培地にディアフォリンを添加し、48時間培養。TCA固定後、SRB染色し、515 nmの吸収を測定。X軸: 培地中のディアフォリンの  $\log_{10} 10 \text{ M}$  濃度。Y軸: 細胞増殖パーセンテージ。[(T<sub>i</sub>-T<sub>z</sub>)/(C-T<sub>z</sub>)] × 100, (T<sub>i</sub> ≥ T<sub>z</sub>); [(T<sub>i</sub>-T<sub>z</sub>)/T<sub>z</sub>] × 100, (T<sub>i</sub> < T<sub>z</sub>)

[T<sub>z</sub>: ディアフォリン添加時のSRB吸光、C: 対照群(ディアフォリン無添加)のSRB吸光、T<sub>i</sub>: ディアフォリン処理後のSRB吸光]。100%は対照群と同等の細胞増殖を、0%は無増殖を、-100%は実験終了時の細胞の全滅を意味する。ディアフォリンは、39系全てのがん細胞に対し、用量依存的な抗腫瘍活性を示した (Tukey-Kramer test,  $p < 0.05$ )。ただし、増殖阻害に要するディアフォリン濃度は既知のペデリンファミリー化合物より高く、相対的に活性が弱いと判断される。

(右図) ディアフォリンに対する各細胞株の相対感受性。GI<sub>50</sub> (50% growth inhibition): 対照群と比較して細胞増殖が半減するディアフォリン濃度。[(T<sub>i</sub>-T<sub>z</sub>)/(C-T<sub>z</sub>)] × 100 = 50 より算出。TGI (total growth inhibition): 細胞増殖を完全停止させるディアフォリン濃度。LC<sub>50</sub> (50% lethal concentration): ディアフォリン添加時と比べ、細胞数が半減するディアフォリン濃度。[(T<sub>i</sub>-T<sub>z</sub>)/T<sub>z</sub>] × 100 = 50 より算出。X軸は GI<sub>50</sub>, TGI, LC<sub>50</sub> の対数で、全39系の平均値と各細胞株の値のずれを示す。中央が平均で、正の値はより感受性が高く、負の値は感受性が低いことを意味する。各細胞株の対ディアフォリン感受性は有意に異なり (Friedman test: Friedman chi-squared = 9.4821, df = 1, p = 0.002075)、いずれの指標も、細胞株間で10倍程度の開きが見られた。これは既知のペデリンファミリー化合物の多くと同様の値である。ペデリン類縁体のうち、シンペリンは、きわめて標的特異性が高く、阻害効果の標的間差異が  $10^4$  倍にも達するため、抗がん薬のシード化合物として特に有望視される。ディアフォリンの創薬シード化合物としての有望性は、残念ながらこれに及ばない。

抗腫瘍活性評価の際は、公益財団法人がん研究会がん化学療法センターのお力添えを賜りました。深謝申し上げます。