



幅広い生理活性物質の標的タンパク質の同定法を開発し、 がん細胞の新規増殖制御メカニズムを解明

～様々な生理活性物質の作用メカニズム解明とがんの予防・治療への応用に期待～

本研究成果のポイント

- 疾患の予防・治療効果を有する生理活性物質の中で、ヒドロキシ基を有する生理活性物質が標的とするヒトタンパク質を同定する方法を開発 【ケミカルバイオロジー】
- がん予防効果が示唆されている、ワカメや昆布の成分であるフコキサンチノールの標的タンパク質として ribosomal protein uS7 を同定 【がん予防、食品の機能性】
- がん細胞の増殖に必須で、抗がん剤パルボシクリブなどの標的であるサイクリン依存性リン酸化酵素 6 (CDK6) に、ribosomal protein uS7 が直接結合し安定化させることで、がん細胞の増殖に大きく寄与していることを発見 【がん生物学、抗がん剤耐性】
- 細胞周期の進行に同期して量変動するサイクリンに対し、なぜ、サイクリン依存性リン酸化酵素の量は安定なのか長年の謎であったが、ribosomal protein uS7 がその安定化に寄与していることを解明 【生命科学】

京都府立医科大学大学院医学研究科分子標的予防医学 飯泉陽介 学内講師らの研究グループは、疾患の予防・治療効果を有する生理活性物質の中で、ヒドロキシ基を有する生理活性物質が標的とするヒトタンパク質を同定する方法を開発しました。その技術を用いて、がん予防効果が示唆されている、ワカメや昆布の成分であるフコキサンチノールの標的タンパク質として ribosomal protein uS7 を同定し、ribosomal protein uS7 が抗がん剤パルボシクリブなどの標的であるサイクリン依存性リン酸化酵素 6 (CDK6) に直接結合し安定化させることで、がん細胞の増殖に大きく寄与していることを発見し、本件に関する論文が、英国科学雑誌『Communications Biology』に 2022年6月9日(木) 18時(日本時間) 付けで掲載されましたのでお知らせします。

医薬品や生理活性物質、食品成分、天然物質などの化合物の多くには、官能基としてヒドロキシ基があることから、本研究で開発されたヒドロキシ基を有する化合物の標的タンパク質の同定法の応用範囲は、医学にとどまらず、薬学、農学、生命科学など広範囲の学問領域に広がることが期待されます。標的タンパク質の同定は、疾患の予防や治療に必要な作用機構解明を可能とし、創薬標的の発見につながる可能性もあります。さらに、食品成分フコキサンチノールの標的タンパク質として見出された ribosomal protein uS7 の詳細な解析により、生命科学上極めて重要な新規細胞周期制御メカニズムも解明されました。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Communications Biology 発表媒体 ■ オンライン速報版 □ ペーパー発行 □ その他 雑誌の発行元国 英国 オンライン閲覧 可 (https://www.nature.com/articles/s42003-022-03522-6) 掲載日 2022年6月9日10時(日本時間:2022年6月9日18時)
論文情報	論文タイトル(英・日) Stabilization of CDK6 by ribosomal protein uS7, a target protein of the natural product fucoxanthinol (天然物質フコキサンチノールの標的タンパク質 ribosomal protein uS7 による CDK6 の安定化) <筆頭著者、責任著者> 京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的予防医学 飯泉陽介 <共同著者> 京都府立医科大学 教育センター 曾和義広 京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的予防医学 後居和佳奈 関西学院大学 生命環境学部 生命医科学科 青野裕一 京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的予防医学 渡邊元樹 産業技術総合研究所 人工知能研究センター 来見田遥一 産業技術総合研究所 人工知能研究センター 亀田倫史 京都薬科大学 赤路健一 浜松医科大学 医学部医学科 分子生物学講座 北川雅敏 京都府立医科大学 創薬センター 酒井敏行

【論文概要】

1 研究分野の背景や問題点

これまでの疫学研究や動物実験、培養細胞実験などにより、様々な生理活性物質や天然物質などに疾患の予防効果や治療効果が見出されてきました。しかし、これらの物質がヒト細胞内のどのタンパク質を標的として、疾患の予防効果や治療効果を発揮しているかについては、多くの生理活性物質においてわかりません(図1)。京都府立医科大学の飯泉陽介らの研究グループは、ケミカルバイオロジー(用語1)の研究分野で用いられているFG beads(用語2)を用いて、がんの予防効果や治療効果を有する生理活性物質などが直接結合し作用するヒトタンパク質の同定研究を行ってきました。2013年には、FG beadsを用いて食品などに含まれているポリフェノール類が結合するヒトタンパク質を同定する方法を開発し発表しました(Iizumi Y., et al., PLoS One, 2013)。この

生理活性物質、天然物質など



疾患の予防・治療効果など

図1. 生理活性物質の多くは標的タンパク質が不明である

方法を用いて、食品中に含まれているポリフェノール類（アピゲニン、レスベラトロール、クルクミン、セサミノール）が結合するヒトタンパク質を同定し発表してきました（Oishi M., et al., PLoS One, 2013; Taniguchi T., et al., Cell Death Dis., 2016; Ono H., et al., Oncol Rep., 2017; Watanabe M., et al., Oncogenesis, 2017）。しかし、生理活性物質の多くが官能基としてヒドロキシ基を有しているにも関わらず、これらの生理活性物質に結合するヒトタンパク質を同定する方法はありませんでした。

2 研究内容・成果の要点

【ヒドロキシ基を有する生理活性物質の結合タンパク質の同定法の開発】

そこで本研究グループは、*N*-ヒドロキシスクシンイミド（HOSu）と4-ジメチルアミノピリジン（DMAP）を触媒として用いることで、カルボキシ基を表面に有するFG beadsにヒドロキシ基を有する生理活性物質を固定化する方法を開発しました（図2）。そして、この手法により様々なヒドロキシ基を持つ生理活性物質をFG beadsに固定化できることを確認し、生理活性物質を固定化したFG beadsを用いて結合タンパク質を精製し質量分析計を用いて同定する方法を開発しました（図3）。

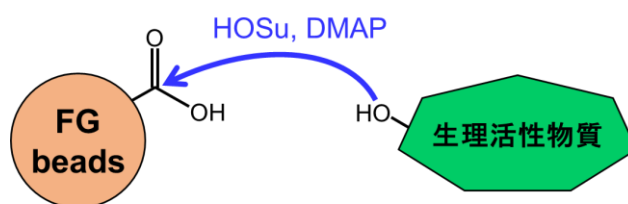


図2. ヒドロキシ基(OH基)を有する生理活性物質の固定化法

ヒト細胞抽出液中のタンパク質

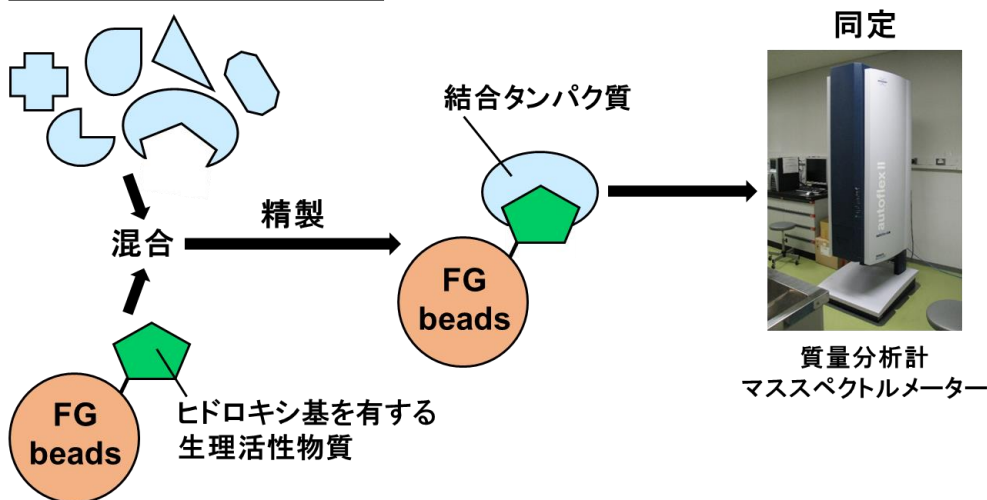


図3. ヒドロキシ基を有する生理活性物質の結合タンパク質の精製と同定

【ワカメや昆布に含まれている成分フコキサンチノールの標的タンパク質の同定】

フコキサンチノールは、ワカメや昆布に含まれている食品成分であるフコキサンチンがヒト体内で代謝されて生じる化合物であり、がんの予防効果などが示唆されていました。本研究グループはまず、フコキサンチノールが抗がん剤パルボシクリブなどの標的であるサイクリン依存性リン酸化酵素6（CDK6）を減少させることで、大腸がん細胞の増殖を抑制することを見出しました。次にHOSuとDMAPを触媒としてFG beadsにフコキサンチ

ノールを固定化し、このフコキサンチノール固定化 FG beads を用いて、大腸がん細胞の抽出液からフコキサンチノールに結合するヒトタンパク質を精製しました。そして質量分析計を用いて、フコキサンチノール結合タンパク質として、細胞内の翻訳を司るリボソームを構成するタンパク質の 1 つである ribosomal protein uS7 (以下、uS7) を同定しました。

【ribosomal protein uS7 は CDK6 に直接結合し安定化する】

次に、同定した uS7 と大腸がん細胞の増殖との関係を調べました。siRNA を用いて大腸がん細胞内の uS7 を減少させると、フコキサンチノールの添加と同様に、大腸がん細胞において CDK6 の量が減少することで細胞周期 (用語 3) の G1 期での停止が誘導され、大腸がん細胞の増殖が抑制されました。さらに uS7 と CDK6 の関係を分子生物学的手法で解析した結果、uS7 は CDK6 に直接結合し CDK6 を安定化していることを見出しました。サイクリンは細胞周期の進行に同期して量の変動することが知られていましたが、逆にサイクリン依存性リン酸化酵素の量はなぜ安定なのか長年の謎でした。本研究により、サイクリン依存性リン酸化酵素の 1 つである CDK6 の安定化に uS7 が寄与していることが明らかになりました (図 4)。

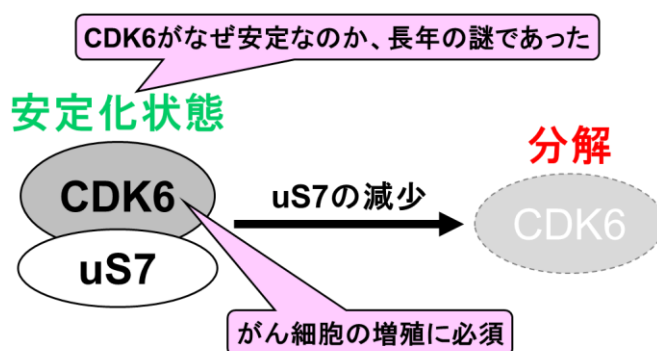


図4. uS7によるCDK6の安定化

フコキサンチノールの作用メカニズムに関しては、フコキサンチノールが大腸がん細胞内の uS7 を減少させることで CDK6 も減少させ、大腸がん細胞の増殖を抑制することを見出しました。

3 今後の展開と社会へのアピールポイント

① 幅広い化合物の作用メカニズムの解明が可能になりました

医薬品や生理活性物質、食品成分、天然物質などの化合物には、ヒドロキシ基を持つものが非常に多くあります。本研究で開発された技術を用いることで、これらの化合物が直接結合し作用する標的タンパク質を同定し、疾患の予防や治療に応用するために必要となる詳細な作用メカニズムを解明することができます。さらには、標的タンパク質そのものが新しい薬を創るための創薬標的となる可能性もあります。本技術の応用範囲は医学にとどまらず、薬学、農学、生命科学など広範囲の学問領域に広がることを期待されます。

② 食品に含まれる成分の研究から生命科学の長年の謎を解き明かしました

本研究では、ワカメや昆布に含まれている食品成分フコキサンチノールの作用機序を追究することで、生命科学の長年の謎であったサイクリン依存性リン酸化酵素の細胞内での安定化機構を解明しました。このことは、食品という身近なものの作用メカニズムを分子レベルで探究することで、生命現象の謎も解明できることを示しています。

③ 臨床で使用されている抗がん剤である CDK4/6 阻害剤の耐性克服につながる可能性

CDK4/6 を阻害する化合物であるパルボシクリブやアベマシクリブなどは乳がんに対する抗がん剤として承認され、現在臨床現場で活躍しています。しかし、CDK6 が過剰に発現した乳がん細胞では、これらの抗がん剤に対して耐性が生じてしまいます。本研究では、uS7 が CDK6 の安定化に寄与していることを発見しました。これより、uS7 の過剰発現や

活性化が CDK6 の過剰発現につながり、パルボシクリブなどの抗がん剤に対する耐性を引き起こしている可能性が考えられます。uS7 を阻害または減少させる戦略が、抗がん剤の耐性克服に貢献しうることを示唆しています。

用語解説

用語 1 ケミカルバイオロジー

生体や細胞に作用する化合物（ケミカル）の作用機構を研究することで、新しい生命現象の発見やタンパク質の新規機能解明などの生物学（バイオロジー）上の発見を目指す学問領域のことを指します。

用語 2 FG beads

東京工業大学大学院生命理工学研究科（現在、生命理工学院）の半田研究室で開発された、医薬品などの化合物が結合するタンパク質を高純度に精製できるナノ磁性ビーズ。多摩川精機株式会社が製造販売しています（<https://fgb.tamagawa-seiki.com/>）。

用語 3 細胞周期

細胞は、ゲノム DNA（細胞の設計図と呼ばれている）を複製し、複製されたゲノム DNA を正確に半分に分けることで細胞分裂し増加します。このゲノム DNA を複製し細胞分裂していく過程を細胞周期といいます。細胞周期は、G1 期、S 期、G2 期、M 期から構成されています。G1 期でゲノム DNA を複製するための準備を行い、S 期で実際にゲノム DNA を複製します。そして G2 期で正確にゲノム DNA が複製されていることを確認し、M 期で細胞分裂して再び G1 期に入ります。この一連の細胞周期の進行は、進行と同期して量変動するタンパク質であるサイクリンと、サイクリンが結合することで活性化するタンパク質であるサイクリン依存性リン酸化酵素によって厳密に制御されています。がん細胞では、この細胞周期の制御に異常が生じることで、ゲノム DNA の複製と細胞分裂が繰り返され、がん細胞の異常増殖につながります。

研究プロジェクトについて

本研究は、以下の研究費の支援を受けて行われました。

科学研究費補助金 若手研究(A) (23689036) 研究代表者：飯泉陽介

科学研究費補助金 新学術領域研究(計画研究) (17H06398) 研究代表者：酒井敏行

<p><研究に関すること> 分子標的予防医学 学内講師 飯泉 陽介 電 話：075-251-5338 E-mail：yiizumi@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p><広報に関すること> 事務局 企画広報課 担当：堤 電 話：075-251-5804 E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
--	--