

(第3号様式)(Form No. 3)

学位論文要旨 Dissertation Summary

氏名 (Name) 山中 聡士

論文名: ケミカルバイオロジーに基づいたユビキチン修飾により制御される

タンパク質分解とシグナル伝達に関する研究

(Dissertation Title) Studies on the protein degradation and signal transduction regulated by ubiquitin modification based on chemical biology

タンパク質のユビキチン化は、真核生物に高度に保存された翻訳後修飾である。ユビキチン化は、複数のユビキチン分子が基質タンパク質上へ鎖状に結合することでポリユビキチン鎖を形成することが知られている。ポリユビキチン鎖はその結合型に依存して異なる機能を果たすことが報告されている。

K63型や直鎖型ポリユビキチン鎖はシグナル伝達に関与する。これらのポリユビキチン鎖依存的なシグナル伝達として免疫・炎症応答において極めて重要なNF- κ Bシグナル伝達が知られている。NF- κ Bシグナル伝達経路において、ユビキチン化の逆反応を担うCYLDやOTULINなどの脱ユビキチン化酵素(DUB)は負の制御因子として機能している。これまでの研究から、CYLDやOTULINは重複した機能や個別の機能を有することが報告されているが、個別の役割においては完全には理解されていない。現在、DUBの役割やDUBが関与する疾患を対象に、DUBの低分子阻害剤の開発が盛んに行われている。

K48型ポリユビキチン鎖は、標的タンパク質の分解に関与している。タンパク質の分解システムは様々な疾患に関与しており、これまでにタンパク質分解を対象にした様々な薬剤が開発されてきた。過去10の研究から、サリドマイドはCRBNに結合し、標的タンパク質の分解を誘導することによって薬効や副作用を示すことが明らかになってきた。現在では、サリドマイドをはじめとするタンパク質分解誘導剤は次世代の薬剤として世界中で開発されている。新たなサリドマイド誘導体の開発において、基質タンパク質を知ることは重要な課題である。また、現在ではタンパク質分解誘導剤を用いた標的タンパク質ノックダウン技術の細胞生物学への利用が期待されている。

本論文ではこのようなポリユビキチン鎖依存的なシグナル伝達及びタンパク質分解を対象に、NF- κ Bシグナル伝達におけるCYLD機能解析のための低分子阻害剤の開発とサリドマイドに

おける催奇性メカニズムの解明及びサリドマイド依存性分解タグの開発を行なった研究成果をそれぞれ発表する。

CYLD 及び USP ファミリー脱ユビキチン化酵素の低分子阻害剤である Subquinocin は NF- κ B シグナル伝達を促進する

東京大学創薬機構の化合物ライブラリーからCYLDのDUB活性を阻害する低分子化合物 Subquinocinを見出した。細胞内において、SubquinocinはCYLDのDUB活性を阻害し、ポリユビキチン鎖を増加させることでNF- κ Bの活性化を促進する。ドッキングモデル解析及びCYLD変異体を用いた生化学的解析から、SubquinocinはUSPファミリーに高度に保存されたチロシン残基と相互作用していることが示唆された。さらに、特異性解析からSubquinocinはUSPファミリーのDUBに阻害効果を示す一方で、他のファミリーのDUBに対しては阻害効果を示さなかった。さらに、CYLDノックアウト細胞を用いた解析からTNF α 依存的なNF- κ Bシグナル伝達経路において、USPファミリーの中でCYLDが支配的に負の制御因子として機能していることが明らかとなった。

PLZF はサリドマイドと5-ヒドロキシサリドマイドの新規な基質である

コムギ無細胞系によって作製された転写因子プロテインアレイを用いて、サリドマイド依存的なCRBNの相互作用因子としてPLZFを見出した。細胞内において、PLZFはサリドマイド依存的にタンパク質分解を受けることが示された。さらに、サリドマイド代謝産物である5-ヒドロキシサリドマイドもPLZFや既報の基質SALL4の分解を誘導することが示された。さらに、ニワトリ胚を用いた解析から、サリドマイド投与に伴い催奇性を示す個体の肢芽において、Plzfが減少していることを確認した。これらの結果から、Plzfはサリドマイド催奇性に関与する新規なサリドマイド及びその代謝産物の基質であることが明らかとなった。

サリドマイド依存的な SALL4 degron の開発

SALL4は2番目のジンクフィンガードメインを介して、サリドマイド依存的にCRBNと相互作用することが報告されている。ジンクフィンガードメインのマッピングを行い、分解誘導に必要な28アミノ酸の配列を決定し、その分解タグをSALL4 degron (S4D)と名付けた。細胞を用いた解析から、S4Dタグは原形質膜を含む様々な局在のタンパク質の分解を誘導することが示された。さらに、サリドマイド処理は内在性のS4D付加された標的タンパク質分解を誘導をすることが示された。NF- κ Bシグナル伝達経路を対象にした解析から、S4Dタグはシグナル伝達を含む細胞生物学において、標的タンパク質の機能解析を行うための有用なシステムであることが示唆された。