

(第6号様式)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	山中 聡士
審査委員	主査 澤崎 達也
	副査 坪井 敬文
	副査 高井 和幸

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

審査結果の要旨

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で鎖状に結合することにより、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の違いにより、細胞内で異なった機能を有する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働きをする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であるユビキチンの切断を担う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年の研究から、サリドマイドはCRBNに結合し、本来の基質タンパク質とは異なった、ネオ基質タンパク質の分解を誘導することにより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、このような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剤の開発において、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。

申請者の学位論文の目的は、このようなポリユビキチン鎖依存的な現象に対して、低分子化合物を基盤にして、CYLD阻害剤の開発、サリドマイド催奇性の作用機序を明らかにすること、及び薬剤依存的な標的タンパク質の分解技術開発である。

申請者は、CYLD阻害剤の開発を目指して、東京大学創薬機構の化合物ライブラリーから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ことを見出し、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明らかとなった。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いことが分かった。加えて、CYLDノックアウト細胞を用いた解析からTNF α (LUBAC)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。

次に申請者は、サリドマイド催奇性の作用機序を明らかにするため、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。複数の培養細胞において、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明らかにされた。加えて、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明らかにされた。ニワトリ胚において、PLZFは四肢発生の重要な役割を担っていることが示された。さらに、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が明らかになった。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基質タンパク質であることが明らかとなった。

次に申請者は、標的タンパク質の機能解析のためのサリドマイド様化合物依存的な分解タグを開発した。開発された分解タグは、サリドマイド様化合物を投与することによって、迅速且つ可逆的に目的タンパク質の発現量を分解できることを示した。加えて、生化学的及び培養細胞を用いた解析から、一過性及び内在性の標的タンパク質に分解タグを孵化することで標的タンパク質の機能解析が行えることを明らかにした。

以上のように、本学位論文研究は、ケミカルバイオロジーに基づきCYLDの阻害剤を開発し、サリドマイド副作用における重要な因子及びそのメカニズムを明らかにし、標的タンパク質の機能解析のための薬剤依存的分解タグを開発した。これらの研究は、今後のユビキチン修飾系を対象にした薬剤開発における重要な成果である。従って、本論文は、博士（工学）の学位論文として十分価値があると判定した。