

所属	薬学部創薬科学科分子医療・ゲノム創薬学研究室	氏名	杉浦 麗子
----	------------------------	----	-------

課題名	ケミカルゲノミクスの手法を用いた加齢に関わるシグナル因子の解析と治療法の開発		
研究分担者	氏名	所属	職位
	高崎 輝恒	薬学部創薬科学科分子医療・ゲノム創薬学研究室	講師
	佐藤 亮介	薬学部創薬科学科分子医療・ゲノム創薬学研究室	講師

## 研究概要

当研究室は、ゲノム薬理と遺伝学を融合した独創的なアプローチにより、分子標的治療薬のターゲットとしても魅力的な Protein kinase C/MAPK シグナル伝達経路の研究を行っている。PKC/MAPK シグナル伝達経路は酵母から高等生物まで高度に保存されていることから、我々はモデル生物である分裂酵母、培養細胞、モデルマウスを駆使することにより、ゲノムレベルから個体レベルまで、増殖シグナルとその病態への理解、治療法の開発をめざした研究を展開している。特に独自の創薬アプローチを用いた革新的抗がん剤の開発、ならびに遺伝子改変マウスを用いた、高齢に伴う臓器や組織の変化に与える PKN の影響という二つのプロジェクトが、本アンチエイジングセンターの課題として重要な位置づけを占めている。

## 研究成果

**PKC ホモログ PKN1 キナーゼデッドマウスの老化に伴う表現型解析に成功した。**

高度に保存された Protein Kinase C ファミリーの一つである PKN1 の個体レベルでの機能解析に着手した。PKN は低分子量 G タンパク質 RhoA, RhoB, RhoC, Rac1 の標的分子として、細胞接着や細胞内輸送、細胞周期制御などの細胞内機能制御に関わることが明らかにされていたが、個体レベルでの生命現象への関与は不明であった。我々の研究室では、PKN3 ノックアウトマウスの作成、PKN1 キナーゼデッド(T778A)ノックインマウスの作成に世界に先駆けて成功し、がんの転移(PKN3)やリンパ球の遊走(PKN1)に関わることを報告してきた。今年度は PKN1 キナーゼデッドマウスが高齢化した際の臓器異常に着目し、解析を行った。PKN1 キナーゼデッドマウスは通常の生育には問題はないが、解剖学的所見として、脾臓の腫大、白血球減少、体重増加などの所見を認めた。一方、PKN1 ノックアウトマウスにおいて報告されている glomerulonephritis に代表される自己免疫疾患様の表現型は PKN1 キナーゼデッドマウスには認められなかった。さらに、PKN1 ノックアウトマウスで報告されている Akt のリン酸化レベルの上昇も認められなかった。これらの結果から、PKN1 はキナーゼ活性以外にも scaffold として機能することにより、リンパ球の遊走などの減少に関わる可能性が示唆された。一方、革新的抗がん薬シーズである ACA-28 は、癌細胞特異的に ERK シグナルを活性化させることにより、抗腫瘍効果を発揮する。今年度は、ACA-28 の癌細胞増殖抑制効果と、癌細胞選択性はさらに高めたリード化合物の創製に成功した。

## 研究発表

## ① 原著論文

- Siddique, S.M., Kubouchi, K., Shinmichi, Y., Sawada, N., Sugiura, R., Itoh, Y., Uehara, S., Nishimura, K., Okamura, S., Ohsaki, H., Kamoshida, S., Yamashita, Y., Tamura, S., Sonoki, T., Matsuoka, H., Itoh, T., Mukai, H.  
PKN1 kinase-negative knock-in mice develop splenomegaly and leukopenia at advanced age without obvious autoimmune-like phenotypes  
*Scientific Reports*, 9: 13977, 2019
- Aizu, T., Suzuki, T., Kido, A., Nagai, K., Kobayashi, A., Sugiura, R., Ito, Y., Mishima, M.  
Domain selective labeling for NMR studies of multidomain proteins by domain ligation using highly active sortase A  
*Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1864(2):129419, 2020

② 学会発表

- 1) 相転移が指揮する MAPK シグナル制御：MAPK シグナルの空間的制御プラットフォームとしての RNA 顆粒の役割  
杉浦麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 2) ダウン症責任因子 DSCR1/RCAN1 ホモログのカルシニューリン依存のおよび非依存的作用  
高崎 輝恒、松村 綾華、真鍋 涼、佐藤 亮介、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 3) 細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度調節におけるオートファジー関連因子 Atg1 と MAPK および  $Ca^{2+}$ /カルシニューリンシグナルの機能的関わり  
嶋田 絵理香、杉山 大征、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 4) 新規 ERK シグナル調節薬 ACA-28 が多様な ERK 活性化癌細胞に対して ERK 依存的細胞死を引き起こす分子機構についての解析  
濱田 直弥、佐藤 亮介、高崎 輝恒、田邊 元三、益子 高、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 5) ERK MAPK 活性化を利用したがん細胞選択的アポトーシス誘導化合物の開発  
佐藤 亮介、濱田 直弥、石川 文洋、高崎 輝恒、田邊 元三、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 6) 新規抗がん剤候補化合物 ACA-28 依存的なアポトーシス誘導機構 における MAPK Phosphatase DUSP6 の役割  
水野 綾美、宮本 理穂、神田 勇輝、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 7) 新規 ERK 活性調節剤 ACA-28 を介するメラノーマ細胞特異的細胞死誘導機構における Nrf-2 の役割  
當内 健太、森 梓、萩原 加奈子、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 8) ダウン症責任因子 DSCR1/RCAN1 ホモログのカルシニューリン依存のおよび非依存的作用  
高崎 輝恒、松村 綾華、真鍋 涼、佐藤 亮介、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 9)  $\alpha$ -Endosulfine ホモログ Igo1 はストレス応答 MAPK シグナルを介してリン酸化依存的に酸化ストレス耐性をもたらす  
田原 彩花、當内 健太、鳥居 礼奈、萩原 加奈子、佐藤 亮介、高崎 輝恒、Wolf Dieter、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 10) ストレス顆粒へのトランスロケーションに注目した Protein Kinase C の制御機構  
神田 勇輝、富本 尚史、永井 善紀、田中 妙美、土屋 葵子、佐藤 亮介、高崎 輝恒、杉浦 麗子  
第 42 回日本分子生物学会年会
- 11) 新規抗がん剤候補化合物 ACA-28 依存的なアポトーシス誘導機構における MAPK Phosphatase DUSP6 の役割  
水野綾美、宮本理穂、神田勇輝、佐藤亮介、高崎輝恒、杉浦麗子  
第 136 回日本薬理学会近畿部会
- 12) オートファジー関連因子 Atg1 の MAPK 経路および  $Ca^{2+}$ /カルシニューリンシグナル制御因子としての新たな働き  
嶋田絵理香、佐藤亮介、高崎輝恒、杉浦麗子  
第 136 回日本薬理学会近畿部会
- 13) 新規 ERK シグナル調節薬 ACA-28 が多様な ERK 活性化癌細胞に対して ERK 依存的細胞死を引き起こす分子機構についての解析  
濱田直弥、佐藤亮介、高崎輝恒、田邊元三、杉浦麗子  
第 136 回日本薬理学会近畿部会
- 14) PKC がストレス顆粒へ移行するメカニズムの解析—PKC のキナーゼ活性や MAPK シグナルが PKC のストレス顆粒移行に与える影響—  
富本尚史、神田勇輝、佐藤亮介、高崎輝恒、杉浦麗子  
第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会
- 15)  $\alpha$ -Endosulfine ホモログ Igo1 が酸化ストレス耐性をどのように獲得するのか—リン酸化依存的な調節機構について—  
田原彩花、當内健太、鳥居礼奈、萩原加奈子、佐藤亮介、高崎輝恒、Dieter Wolf、杉浦麗子  
第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会
- 16) 新規 ERK 活性調節剤 ACA-28 によるメラノーマ細胞特異的細胞死誘導機構の解析  
當内健太、森梓、萩原加奈子、佐藤亮介、高崎輝恒、杉浦麗子  
第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会
- 17) RNA 結合タンパク質 Pumilio によるイノシトールリン脂質代謝経路の制御  
佐藤亮介、田中千晶、高崎輝恒、杉浦麗子  
酵母遺伝学フォーラム第 52 回研究報告会

- 18) 膜を持たないオルガネラであるストレス顆粒の MAPK シグナル制御ハブとしての働き  
杉浦麗子  
酵母遺伝学フォーラム第 52 回研究報告会
- 19) 分裂酵母の酸化ストレス応答におけるダウン症責任因子 DSCR1/RCAN1 ホモログの新たな役割  
高崎輝恒、松村綾華、真鍋涼、佐藤亮介、杉浦麗子  
酵母遺伝学フォーラム第 52 回研究報告会
- 20) PKC がストレス顆粒へ移行するメカニズムの探索  
富本尚史、神田勇輝、佐藤亮介、高崎輝恒、杉浦麗子  
酵母遺伝学フォーラム第 52 回研究報告会
- 21) The importance of the DUSPs (dual-specificity phosphatases) in mediating the biological effect of ACA-28, a novel MAPK signalling modulator identified in the chemical genetic screen using fission yeast  
Mizuno, A., Kanda, Y., Satoh, R., Takasaki, T., Sugiura, R.  
10th International Fission Yeast Meeting (pombe 2019)
- 22) Phospho-regulation of  $\alpha$ -Endosulfine homolog Igo1 in oxidative stress responses  
Tahara, A., Touchi, K., Torii, R., Hagihara, K., Mori, A., Satoh, R., Takasaki, T., Wolf, D., Sugiura, R.  
10th International Fission Yeast Meeting (pombe 2019)
- 23) The role of autophagy-related factors and calcineurin in the mechanisms of  $Ca^{2+}$  homeostasis in nutrient-rich and starved conditions  
Shimada, E., Sugiyama, T., Satoh, R., Takasaki, T., Sugiura, R.  
10th International Fission Yeast Meeting (pombe 2019)
- 24) Chemical genetic screen in fission yeast identified ACA-28 and its potent derivative compound, which preferentially kill several cancer cells  
Hamada, N., Satoh, R., Tanabe, G., Ishikawa, F., Takasaki, T., Sugiura, R.  
10th International Fission Yeast Meeting (pombe 2019)
- 25) The KH-type RNA-binding protein Rnc1 regulates stress granule assembly, dependently or independently of its RNA-binding activity  
Satoh, R., Kawasaki, A., Hara, N., Takasaki, T., Sugiura, R.  
10th International Fission Yeast Meeting (pombe 2019)
- 26) Phase separation orchestrates MAPK signaling ~The role of RNA granule as a platform to spatially regulate MAPK signaling~  
Sugiura, R.  
10th International Fission Yeast Meeting (pombe 2019) (依頼口頭)