

所属	薬学部創薬科学科	氏名	杉浦 麗子
----	----------	----	-------

課題名			
研究分担者	氏名	所属	職位
	杉浦 麗子	薬学部創薬科学科	教授
	高崎 輝恒	薬学部創薬科学科	講師
	佐藤 亮介	薬学部創薬科学科	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、ならびに近年生命科学研究における重要な課題と位置づけられる「細胞内凝集体」の一種であるストレス顆粒と細胞増殖・癌化シグナルの関係を強く示唆する結果を得た。また、細胞内で α シヌクレインを凝集させることに成功し、パーキンソン病モデル細胞を確立し、創薬探索の準備が整ったので報告する。

研究成果

1) ERK 依存的細胞死の誘導を利用した革新的抗がん剤シーズ ACA-28 の作用機構の解析：

ACA-28 およびそのリード化合物である ACAGT-007 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。GT-007 は、抗腫瘍活性のみならず、がん細胞選択性も向上している。今年度は ACA-28 が ERK 依存的細胞死を誘導するメカニズムの一端として、<ERK 選択的脱リン酸化酵素>である DUSP6 (Dual-Specificity Phosphatase 6) の関与を報告した。DUSP6 は ERK を脱リン酸化することにより不活性化することから、細胞増殖シグナル、ならびに癌化シグナルの抑制因子と認識されていた。一方我々は、ERK 活性化モデル細胞として、がん遺伝子 HER2/ERBB2 を過剰発現させた細胞と NIH3T3 細胞を比較することにより、1)DUSP6 は ERK 活性依存的に発現が制御されていること、2)ACA-28 は DUSP6 の発現量をがん細胞選択的に減少させ、細胞死を誘導することを見いだした。興味深いことに、DUSP6 のノックダウンによってもがん細胞選択的な細胞死の誘導が確認されたことから、DUSP6 は癌抑制因子としてのみならず、がんを促進する働きがあること、ACA-28 およびその誘導体は DUSP6 をプロテアソーム依存的にダウンレギュレーションするという新しいメカニズムにより細胞死を誘導することを見いだした。

2) ストレス顆粒を標的とした新たながん治療戦略：

ストレス顆粒は、膜を持たない細胞内オルガネラとしてその凝集や離散のメカニズムが近年注目を集めている。特に「シグナル伝達因子」を取り込む「シグナル制御の場」としての役割や癌・神経変性疾患との関わりが脚光を浴びている。我々は、MAPK シグナルを活性化する役割のある PKC (Protein Kinase C)がストレス顆粒に取り込まれることに着目し、その制御機構や生理的役割の一部を明らかにした。すなわち、PKC/Pck2 がストレス顆粒に移行するには、キナーゼ活性に加え、下流の MAPK が活性化していることが必要であることを証明した。さらに、ストレス顆粒に移行できない PKC は MAPK の再活性化が促進されることから、ストレス顆粒は MAPK シグナルのフィードバック制御機構としての役割を担うことを証明した。ある種のがん細胞では、生存戦略としてストレス顆粒の産生を亢進させていることから、ストレス顆粒の凝集を促進あるいは阻害する薬物を開発することができれば、新たながん治療の手段となりうると考えられる。

3) α シヌクレインを標的としたパーキンソン病モデル細胞の確立と創薬への応用：

パーキンソン病においては、中脳の黒質にあるドパミン産生細胞にレビー小体と呼ばれる α -シヌクレイン凝集体が異常凝集することが知られている。そこで我々は、酵母細胞内に α シヌクレインを GFP 融合タンパク質として大量発現させることにより、異常凝集するモデル細胞を確立し、かつ、細胞毒性を示すことを見いだした。さらにケミカルゲノミクス的手法により、特定の化合物 X が、 α シヌクレインの凝集を軽減することを見いだした。今後この化合物の効果を動物レベルで検証することにより、パーキンソン病あるいはレビー小体型認知症に治療に応用できるかを検証していく予定である。

① 原著論文

- 1) Satoh, R., Hamada, N., Yamada, A., Kanda, Y., Ishikawa, F., Takasaki, T., Tanabe, G., Sugiura, R.
Discovery of new benzhydryl biscarbonate esters as potent and selective apoptosis inducers of human melanomas bearing the activated ERK pathway: SAR studies on an ERK MAPK signaling modulator, ACA-28.
Bioorganic chemistry. **103**, 104137, 2020
- 2) Hagihara, K., Kanda, Y., Ishida, K., Satoh, R., Takasaki, T., Maeda, T., Sugiura, R.
Chemical genetic analysis of FTY720- and Ca²⁺-sensitive mutants reveals a functional connection between FTY720 and membrane trafficking.
Genes to cells. **25**(9), 637-645, 2020
- 3) Okita, K., Hara, Y., Okura, H., Hayashi, H., Sasaki, Y., Masuk, S., Kitadai, E., Masuko, K., Yoshimoto, S., Hayashi, N., Sugiura, R., Endo, Y., Okazaki, S., Arai, S., Yoshioka, T., Matsumoto, T., Makino, Y., Komiyama, H., Sakamoto, K., Masuko, T.
Antitumor effects of novel mAbs against cationic amino acid transporter 1 (CAT1) on human CRC with amplified CAT1 gene
Cancer Science. **112**(2), 563-574, 2020
- 4) Kanda, Y., Mizuno, A., Takasaki, T., Satoh, R., Hagihara, K., Masuko, T., Endo, Y., Tanabe, G., Sugiura, R.
Down-regulation of DUSP6, a negative regulator of oncogenic ERK signaling, by ACA-28 induces apoptosis in NIH/3T3 cells overexpressing HER2/ErbB2
Genes Cells. **26**(2), 109-116, 2021
- 5) Kanda, Y., Satoh, R., Takasaki, T., Tomimoto, N., Tsuchiya, K., Tsai, CA., Tanaka, T., Kyomoto, S., Hamada, K., Fujiwara, T., Sugiura, R.
Sequestration of the PKC ortholog Pck2 in stress granules as a feedback mechanism of MAPK signaling in fission yeast
Journal of Cell Science. **134**(2):jcs250191, 2021

② 学会発表

- 1) 酵母における MAPK 依存的リン酸化による相分離顆粒形成と創薬への応用
杉浦麗子
日本植物学会第 84 回大会 2020 年 9 月 19 日 (オンライン) シンポジウム
- 2) Crosstalk between the NRF-2 signaling and the ERK-dependent cell death mediated by a novel ERK signaling modulator ACA-28
Sugiura R
The 14th International Conference on Protein Phosphatase 2020 年 12 月 10 日~12 日 (神戸)
- 3) Importance of the activation-loop phosphorylation of Pck2/PKC for the stress granule translocation
Kyomoto S, Kanda Y, Tomimoto N, Satoh R, Takasaki T, Sugiura R
The 14th International Conference on Protein Phosphatase 2020 年 12 月 10 日~12 日 (神戸)
- 4) PKC / MAPK signal suppression mechanism via the DEAD-box RNA helicase DDX3/Ded1
Tomimoto N, Kanda Y, Tsai CA, Satoh R, Takasaki T, Sugiura R
The 14th International Conference on Protein Phosphatase 2020 年 12 月 10 日~12 日 (神戸)
- 5) The MAPK Phosphatase DUSP6 plays an important role in the mechanisms of apoptosis induced by a novel anti-cancer compound ACA-28
Mizuno A, Kanda Y, Miyamoto R, Fujiwara D, Satoh R, Takasaki T, Sugiura R
The 14th International Conference on Protein Phosphatase 2020 年 12 月 10 日~12 日 (神戸)
- 6) Oncogenicity of LAT1 amino acid transporter and its potential as an anti-cancer target
Hayashi N, Yamasaki A, Masuko T, Endo Y, Sugiura R
The 14th International Conference on Protein Phosphatase 2020 年 12 月 10 日~12 日 (神戸)
- 7) Impacts of ACA-28 derivatives on the ERK MAPK & PI3K/AKT signaling pathways in pancreatic cancer cells
Khandakar GI, Mizuno A, Satoh R, Takasaki T, Tanabe G, Sugiura R
The 14th International Conference on Protein Phosphatase 2020 年 12 月 10 日~12 日 (神戸)