

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07062

研究課題名(和文) プロテアソーム不全時のO-GlcNAc修飾亢進による新規恒常性維持機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of a novel homeostatic mechanism by enhanced O-GlcNAcylation under proteasome dysfunction

研究代表者

濱崎 純 (Hamazaki, Jun)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教

研究者番号：80533588

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：プロテアソームは細胞内タンパク質の分解に働き全ての真核細胞で必須の役割を担うタンパク質複合体である。申請者が独自に確立した生理的プロテアソーム不全を模した実験系で実施した哺乳類培養細胞での遺伝学的探索により、プロテアソーム不全時の細胞における恒常性維持にO-GlcNAc修飾の亢進が重要であることを見出した。本研究ではこの具体的な分子機構を解明すべく、質量分析や遺伝学探索により同定した重要因子の役割や生理的な重要性について検討を行った。その中で実際にプロテアソーム機能の調節に働く因子を見出し、大まかな機能解明を終えることができたが、詳細の検証や、より発展的な研究拡大の必要性が生じている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳類プロテアソームの機能制御や生理機能についてはまだ未解明の部分が多く、プロテアソーム機能不全が関与すると考える広範な病態発症の基本原則の理解には課題が多いのが現状である。本研究においてプロテアソーム不全時にどのような細胞応答が生じるかを明らかにし、それを担う新たなプロテアソーム制御因子の同定と機能解明を進めたことは学術的にも重要性は高く、治療アプローチの作用点として今後研究が発展することで応用研究の基盤としても将来性が高い。

研究成果の概要(英文)：The 26S proteasome is a protein complex that plays a role in protein degradation and plays an essential role in all eukaryotic cells. We identified that the enhanced O-GlcNAcylation of proteins is important to cellular proteostasis under proteasome dysfunction. In this study, we investigated the role and physiological importance of novel factors identified by mass spectrometry or genetic explorations to elucidate the molecular mechanism of O-GlcNAcylation. We identified the novel factor that act on the regulation of proteasome function and clarify their function of them, but there is a need for detailed verification and further development of research.

研究分野：タンパク質分解

キーワード：プロテアソーム ユビキチン O-GlcNAc

1. 研究開始当初の背景

プロテアソームはポリユビキチン化タンパク質の分解を実行し、真核生物の多様な細胞機能制御に必須のタンパク質分解酵素複合体である。近年、哺乳類プロテアソームが分子・機能多様性を獲得し哺乳類特有の高次生命現象に重要な働きをしていることや、神経変性疾患を始めとする様々なヒトの疾患、特にがん・老化に関与していることが知られ始めている。多発性骨髄腫などのがん細胞では活発な増殖に伴いプロテアソーム発現の亢進が観察されるとともに、プロテアソーム活性阻害に対する感受性が高いことから、細胞の生存にプロテアソーム活性が大きく寄与していると考えられている。実際にプロテアソーム阻害剤 bortezomib (Velcade)が難治性多発性骨髄腫へ適応され顕著な効果を上げていることから、抗がん剤としての新たな創薬ターゲットとしてプロテアソームが大きく注目されている。しかし bortezomib によるがん細胞特異的な細胞死誘導メカニズムの実態は明らかではなく、臨床現場で顕在化している bortezomib 耐性細胞出現に対する有効な対応策や治療方法が確立しておらず、bortezomib 作用機序の本質的な理解と新たな分子標的薬との併用アプローチの確立が喫緊の課題となっている。一般に、プロテアソーム不全により転写因子 Nrf1 を介したプロテアソームサブユニット群の代償的発現誘導や様々なストレス応答が惹起されることから、哺乳類プロテアソーム不全時の恒常性維持機構が想定されるものの、その実体は十分明らかでない。

申請者らはこれまで作出した種々のプロテアソーム関連因子ノックアウト(KO)マウスにおける肥満、老化や神経変性など特徴的な表現型を観察するとともに、プロテアソームサブユニットのアミノ酸変異が慢性炎症疾患の原因であることを共同研究により報告している。一方で、Nrf1 による代償的プロテアソーム転写亢進に必要なプロセシング酵素 DD12 を同定するなどプロテアソーム不全で起きる細胞応答と個体での表現型について包括的に研究を進めているものの、プロテアソーム不全時における生体応答全体の理解には及んでいない。この現状を踏まえ、プロテアソーム不全に起因する病態発症メカニズムの理解に立脚した抗がん剤を代表とする新薬・治療法の創出のための新規創薬ターゲットの発見が急務と考えた。現在までに進めている研究によりプロテアソーム不全時における O-GlcNAc 修飾タンパク質の亢進が細胞恒常性維持に重要であるという有力な証拠を得ており、本計画の推進によりその具体的な分子メカニズムの解明を目指した。

2. 研究の目的

ヒト病態・生理的条件に近い軽微なプロテアソーム不全時に働く O-GlcNAc 修飾亢進による恒常性維持の分子メカニズムを解明することで、その生体応答を逆手にとり、プロテアソーム阻害剤との併用により効果的かつ副作用の少ないがん治療戦略の新しいアプローチの創出を目指す。

3. 研究の方法

以下の観点から計画を実施した。

1: O-GlcNAc 修飾タンパク質亢進による恒常性維持制御因子の探索

- 2: 各因子が担う恒常性維持機構における具体的な分子機能の解明
- 3: マウス個体を用いた恒常性維持制御因子の生理機能の解明

4. 研究成果

質量分析および遺伝学的スクリーニングから新規因子の同定に成功し、この因子がプロテアソーム機能制御に働く分子機構の大枠を明らかにした。またこの因子の生理的重要性を検証するためのノックアウトマウス作成にも成功し、現在解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kanazawa N, HH, KN, OH, Hamazaki J, MH, KA, MT, HS, HK, KN, KS, HY, IK, NR, TM, YY, TS, OT, OT, KT, SI, FY, WN, IY, KK, OS, TT, NK, MS, YK, Kaisho T	4. 巻 12
2. 論文標題 Heterozygous missense variant of the proteasome subunit -type 9 causes neonatal-onset autoinflammation and immunodeficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-27085-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Waku T, Nakamura N, Koji M, Watanabe H, Kato H, Tatsumi C, Tamura N, Hatanaka A, Hirose S, Katayama H, Tani M, Kubo Y, Hamazaki J, Hamakubo T, Watanabe A, Murata S, Kobayashi A.	4. 巻 40
2. 論文標題 NRF3-POMP-20S Proteasome Assembly Axis Promotes Cancer Development via Ubiquitin-Independent Proteolysis of p53 and Retinoblastoma Protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MCB.00597-19.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hamazaki J, Murata S.	4. 巻 21
2. 論文標題 ER-Resident Transcription Factor Nrf1 Regulates Proteasome Expression and Beyond	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21103683.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto E, Okuno S, Hirayama S, Arata Y, Goto T, Kosako H, Hamazaki J, Murata S.	4. 巻 23
2. 論文標題 Enhanced O-GlcNAcylation Mediates Cytoprotection under Proteasome Impairment by Promoting Proteasome Turnover in Cancer Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101299.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Otsubo R, Mimura H, Ashida H, Hamazaki J, Murata S, Sasakawa C.	4. 巻 3
2. 論文標題 Shigella effector IpaH4.5 targets 19S regulatory subunit RPN13 in the 26S proteasome to dampen cytotoxic T lymphocyte activation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Microbiol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cmi.12974.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arata Y, Watanabe A, Motosugi R, Iemura SI, Natsume T, Mukai K, Taguchi T, Hirayama S, Hamazaki J, Murata S.	4. 巻 24
2. 論文標題 FAM48A mediates compensatory autophagy induced by proteasome impairment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes Cells	6. 最初と最後の頁 559-568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12708	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arata Y, Watanabe A, Motosugi R, Murakami R, Goto T, Hori S, Hirayama S, Hamazaki J, Murata S.	4. 巻 24
2. 論文標題 Defective induction of the proteasome associated with T-cell receptor signaling underlies T-cell senescence	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes Cells	6. 最初と最後の頁 801-813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12728.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohigashi I, Tanaka Y, Kondo K, Fujimori S, Kondo H, Palin A, Hoffmann V, Kozai M, Matsushita Y, Uda S, Motosugi R, Hamazaki J, Kubota H, Murata S, Tanaka K, Katagiri T, Kosako H, Takahama Y	4. 巻 29
2. 論文標題 Trans-omics impact of thymoproteasome in cortical thymic epithelial cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2901-2916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.10.079	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 濱崎 純、村田 茂穂	4. 巻 92
2. 論文標題 26Sプロテアソームによるユビキチン化タンパク質認識・分解機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 48-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 濱崎純、村田茂穂
2. 発表標題 ユビキチン・プロテアソーム系の不調による炎症性疾患発症の分子機構
3. 学会等名 第5回日本免疫不全・自己炎症学会 総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山村まどか、本杉良、濱崎純、村田茂穂
2. 発表標題 哺乳類プロテアソームの基礎的発現制御因子の探索
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉敷純、平山尚志郎、小迫英尊、濱崎純、村田茂穂
2. 発表標題 ユビキチンリガーゼRNF181はプロテアソーム機能低下時のプロテアソーム活性維持に重要な役割を果たす
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増田竣, 入木朋洋, 安田柊, 小迫英尊, 平山尚志郎, 大竹史明, 佐伯泰, 濱崎純, 村田茂穂
2. 発表標題 Senescence-associated nuclear proteasome foci degrade p21 and suppress mitochondrial activation
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 下岡雅和、濱崎純、村田茂穂
2. 発表標題 プロテアソーム転写因子Nrf1活性化に働く新規プロテアーゼDDI2によるプロセッシング条件の検討
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安田柊、入木朋洋、増田竣、平山尚志郎、濱崎純、村田茂穂
2. 発表標題 細胞老化依存的に生じるプロテアソームfociの機能解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shota Okuno, Eiichi Hashimoto, Shoshiro Hirayama, Hidetaka Kosako, Jun Hamazaki, and Shigeo Murata
2. 発表標題 The ubiquitin ligase RNF181 plays a pivotal role in sustaining the mammalian proteasome activity unde proteasome impairment.
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jun Hamazaki, Eiichi Hashimoto, Shota Okuno, Shohiro Hirayama, Hidetaka Kosako, Shigeo Murata
2. 発表標題 RNF181 plays a pivotal role in O-GlcNAcylation-mediated cytoprotection under the proteasome impairment in cancer cells
3. 学会等名 3rd EMBO Conferense Series, The ubiquitin system (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関