

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07090

研究課題名(和文) 選択的核内受容体調節薬による遺伝子選択的発現調節機構の解明

研究課題名(英文) The mechanism of selective gene regulation by selective nuclear receptor modulators

研究代表者

菅野 裕一郎 (Kanno, Yuichiro)

静岡県立大学・薬学部・講師

研究者番号：40453849

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)：核内受容体は様々な生理作用に関与し、内分泌疾患、代謝疾患、がんなど様々な疾患に関与している。核内受容体の生理機能及び活性の制御機構の解明は、核内受容体を分子標的とした治療薬の開発に非常に重要である。選択的核内受容体調節薬は、近年様々な治療薬の候補化合物として注目されているが、遺伝子選択的な発現調節機構の分子機構は不明である。本研究では「核内受容体による選択的遺伝子発現調節は、コファクター、リガンド、標的遺伝子/エンハンサーの3つの因子の相互関係によって決定される」というモデルを基盤に分子機構の立証を行った。その結果、CARやアンドロゲン受容体において3因子をモデルとした分子機構が立証できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、核内受容体による遺伝子発現機構の基本原則を理解し、選択的核内受容体調節薬の分子基盤を確立することができる。そして、その情報を利用して新たな治療薬候補としての選択的核内受容体調節薬を探索する手法の提案することが可能になる。

研究成果の概要(英文)：Nuclear receptors are involved in various physiological actions and are involved in various diseases such as endocrine diseases, metabolic diseases, and cancer. Understanding of the regulation mechanism of the physiological function and activity of nuclear receptors is very important for the development of therapeutic agents targeting nuclear receptors. Selective nuclear receptor modulators (SNRM) have been noted as candidate compounds for various therapeutic agents in recent years, but the molecular mechanism of gene-selective expression regulatory mechanism is unknown. In this study, we proved the molecular mechanism based on the model that "selective gene expression regulation by nuclear receptors is determined by the crosstalk of three factors: cofactor, ligand, and target gene / enhancer". As a result, we were able to establish a molecular mechanism based on our model in CAR and androgen receptors.

研究分野：衛生薬学

キーワード：核内受容体 転写因子 ホルモン 薬学 衛生薬学

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リガンド依存的な転写因子である核内受容体 (NR) スーパーファミリーは、ヒトで 48 種類知られている。核内受容体は様々な生理作用に関与し、内分泌疾患、代謝疾患、がんなど様々な疾患に関与していることが明らかとなってきている。核内受容体の生理機能及び活性の制御機構の解明は、核内受容体を分子標的とした治療薬の開発に非常に重要である。リガンドの結合により活性化した核内受容体は、標的遺伝子のエンハンサー/プロモーター上に存在する応答配列に結合する。続いて核内受容体は、エンハンサー上に転写共役因子複合体群 (コファクター) をリクルート (呼び込む) することにより、標的遺伝子の転写を活性化する。核内受容体はリガンド依存的に様々なコファクター複合体と相互作用し転写の調節を行っていると考えられている。

選択的核内受容体調節薬 (Selective nuclear receptor modulator: SNRM) は、選択的に核内受容体の活性を調節するリガンドであり、近年様々な治療薬の候補化合物として注目されている。一般的な SNRM は、組織により標的とする核内受容体に対してアゴニスト (活性化) 及びアンタゴニスト (不活性化) 作用が異なるリガンドである (組織選択性) (図 1A、SNRM による同一の遺伝子の発現制御が組織によってアゴニストと異なる。)。その例として選択的エストロゲン受容体調節薬 (selective estrogen receptor modulator、SERM) であるタモキシフェンは組織選択的に作用し、エストロゲン依存的な乳がんにおいてアンタゴニスト作用を示し乳がん細胞の増殖抑制作用を示すため、乳がんの治療薬として用いられている。一方でタモキシフェンは、子宮に対してアゴニストとして作用するため、子宮がんのリスクがあることが知られている。このような SNRM の作用の組織選択性はコファクターの発現の違いが、コファクターのリクルートの変化を引き起こすことにより発揮されている可能性が示唆されている (Science 2002: 295, 2465-2468) が明確にはなっていない。一方で、我々は、同一組織においてもリガンドにより核内受容体を介した遺伝子発現パターンが異なること (遺伝子選択性) を報告している (J Nat Prod. 2016;79:879-885) (図 1B、SNRM による遺伝子の発現が同一細胞内でアゴニストと異なる。)。SNRM による遺伝子選択的な発現調節機構 (図 2B) の詳細なメカニズムはコファクターの発現の相違のみでは説明ができないため、現在その分子機構は不明である。

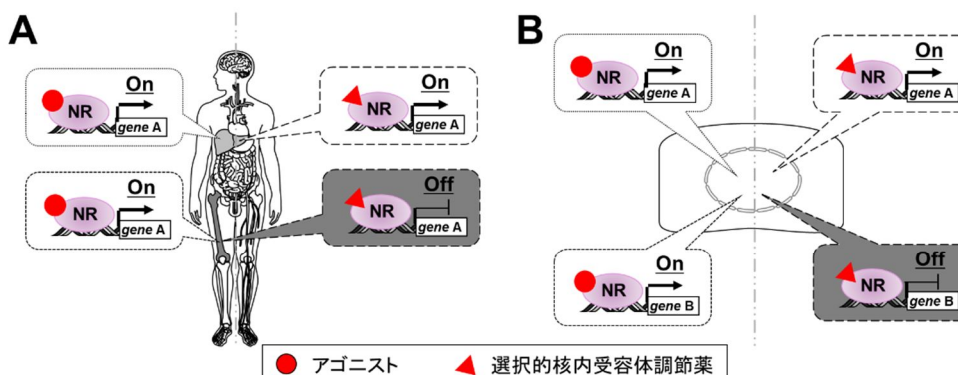


図1 選択的核内受容体調節薬の作用の概略図

- A) 組織選択的発現調節
- B) 遺伝子選択的発現調節

2. 研究の目的

我々は、この遺伝子選択的な発現調節が SNRM の作用発揮に重要であると考えている。そこで本課題では、「SNRM による同一細胞内でみられる遺伝子選択的発現調節機構がどのように引き起こされるのか」という学問的問いに焦点を当てて、その作用機序を解明することを目的とした。これらの分子機構の解明は、組織、作用選択的な新規核内受容体調節薬の開発・探索、核内受容体を標的とした治療薬による副作用の予測などに貢献できる。申請者らは、核内受容体 Constitutive androstane receptor (CAR) を中心にその活性調節機構を検討し、CAR による標的遺伝子の転写活性化が転写共役因子及びリガンド依存的に引き起こされることを明らかにしてきた (遺伝子選択的発現調節)。しかしながら、その詳細な遺伝子選択的発現調節機構は未だ明らかでない。また、選択的核内受容体調節薬 (SNRM) として作用する医薬品も臨床で使用され、作用機構に遺伝子選択的発現調節が関与していることが示唆されているが、分子メカニズムはほとんど明らかとなっていない。その分子メカニズムを明らかにするため申請者は「核内受容体による選択的遺伝子発現調節は、コファクター、リガンド、標的遺伝子/エンハンサーの 3 つの因子の相互関係によって決定される」というモデルを提案している。本研究は、そのモデルを立証することを目的とする。

3. 研究の方法

核内受容体 CAR をモデルに核内受容体による選択的遺伝子発現調節機構の解明を目指す。具体的には、それぞれのコファクターの関係を明確にするため、CAR と相互作用する転写共役因子を同定し、CAR による転写活性化に対する影響をクロマチン免疫沈降法やレポーターアッセイを用いて評価する。

提案している仮説をより一般的なものにするために、モデルとして用いている CAR における検証結果を他の核内受容体においても証明していく必要がある。申請者らはこれまでに天然物及び合成化合物のスクリーニングにより、すでにアンドロゲン受容体 (Biol PharmBull. 2011; 34(3): 318-323.、2018; 41: 394-398) やペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) 及び PPAR (J Nat Prod. 2016; 79: 879-885 J Nat Prod. 2016 79: 3127-3133) に対する SNRM 候補化合物を見出している。そこで2年目からは、これらの化合物を用いて1年目で CAR をモデルとして得られた知見をベースとして仮説のさらなる立証をする。

4. 研究成果

申請者らはこれまでに CAR の遺伝子選択的な発現調節にかかわるコファクターの個々の作用について評価を行い発表してきた。しかしながら選択的なその作用は、1種類のコファクターで決定されているのではなく、いくつかのコファクターの相互作用によって引き起こされることが示唆されているため、その相互作用についてより分子生物学的手法を用いて詳細に検討を行った。その結果、新たに CAR と相互作用するタンパク質として同定した IVNS1ABP は CAR と転写共役因子 PGC1 α による転写活性化を促進させるが、SRC1 や SRC2 による CAR の転写活性化は促進させなかった (図2、未発表データ)。

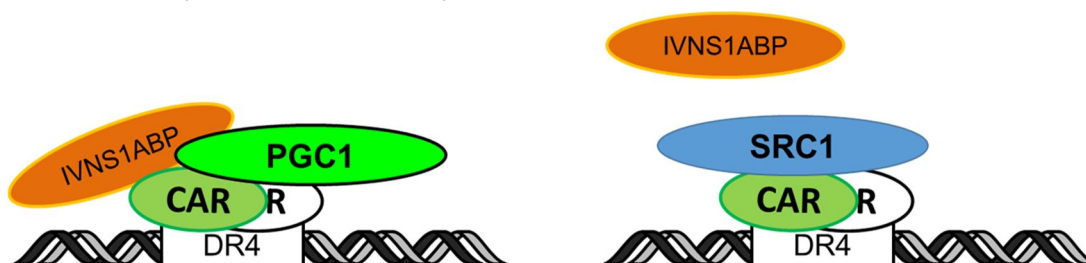


図2 CARを介した転写におけるIVNS1ABPの転写共役因子の選択性

また、これまでに得られた研究成果より選択的アンドロゲン受容体調節薬である YK11 の選択的遺伝子発現調節の分子メカニズムを明らかとするために、YK11 が結合したときに相互作用するコファクターの同定を行うこととした。YK11 を処理した細胞より、RIME (Rapid Immunoprecipitation Mass spectrometry of Endogenous proteins) 法を用いて YK11 と結合しているアンドロゲン受容体と相互作用しているコファクターを同定しました。その結果、これまでにアゴニストと結合した AR と相互作用が認められているコファクター以外に GATAD2B 及び BCOR などの特徴的な転写共役因子との相互作用が認められた。そこで、アンドロゲン受容体陽性乳がん細胞株を用いて転写共役因子 GATAD2B 及び BCOR をノックダウンし、アンドロゲンアゴニスト (DHT) 及び YK11 による標的遺伝子の発現誘導を比較した。その結果、遺伝子により転写抑制に作用したり、転写促進的に作用していることが示唆された。以上のことから、転写共役因子は、標的遺伝子 (エンハンサー) により転写活性化因子もしくは転写抑制因子としても働く可能性が示唆された。

以上より、本研究では、申請者の提案する「核内受容体による遺伝子発現調節は、リガンド・転写共役因子・標的遺伝子 (エンハンサー) の3因子の相互関係によって決定される」というモデルを基盤に得られた研究成果 (「核内受容体 CAR による転写共役因子の選択性」及び「選択的アンドロゲン受容体調節薬によるアンドロゲン受容体と転写共役因子の相互作用の選択性」) より、新たな SNRM による遺伝子選択的な発現調節機構に関する知見を加えることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamashita Naoya, Kanno Yuichiro, Yoshikawa Minami, Ozawa Moeno, Sanada Noriko, Nemoto Kiyomitsu, Kizu Ryoichi	4. 巻 46
2. 論文標題 Polycyclic aromatic hydrocarbons induce CYP3A5 gene expression via aryl hydrocarbon receptor in HepG2 cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 25 ~ 29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.46.25	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 Shizu Ryota, Otsuka Yuta, Ezaki Kanako, Ishii Chizuru, Arakawa Shingo, Amaike Yuto, Abe Taiki, Hosaka Takuomi, Sasaki Takamitsu, Kanno Yuichiro, Miyata Masaaki, Yamazoe Yasushi, Yoshinari Kouichi	4. 巻 98
2. 論文標題 Antiepileptic Drug-Activated Constitutive Androstane Receptor Inhibits Peroxisome Proliferator-Activated Receptor and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Coactivator 1 - Dependent Gene Expression to Increase Blood Triglyceride Levels	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Pharmacology	6. 最初と最後の頁 634 ~ 647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/molpharm.120.000103	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 Yamashita Naoya, Kanno Yuichiro, Saito Nao, Terai Kensuke, Sanada Noriko, Kizu Ryoichi, Hiruta Nobuyuki, Park Youngjin, Bujo Hideaki, Nemoto Kiyomitsu	4. 巻 516
2. 論文標題 Aryl hydrocarbon receptor counteracts pharmacological efficacy of doxorubicin via enhanced AKR1C3 expression in triple negative breast cancer cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 693 ~ 698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.06.119	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 Saito Nao, Kawase Keiko, Yamashita Naoya, Tang Yingzhan, Wang Ying, Wang Jian, Liu Yongxiang, Li Ning, Li Wei, Cheng Mao-Sheng, Koike Kazuo, Kanno Yuichiro, Nemoto Kiyomitsu	4. 巻 88
2. 論文標題 Identification of 10-dehydroxyglycyralin E as a selective human estrogen receptor alpha partial agonist	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic Chemistry	6. 最初と最後の頁 102977 ~ 102977
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bioorg.2019.102977	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小菅 友大、菅野裕一郎、保坂卓臣、志津 怜太、吉成浩一
2. 発表標題 合成ステロイドYK11及び選択的アンドロゲン受容体調節薬によるAR活性化機構の比較
3. 学会等名 フォーラム2021衛生薬学環境トキシコロジー
4. 発表年 2021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
---------	---------