

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390024

研究課題名（和文） ゲノム創薬をめざした MAP キナーゼシグナルの制御機構の解明

研究課題名（英文） Molecular Genetic Analysis of the MAPK Signaling Pathway:

研究代表者 杉浦 麗子 (SUGIURA REIKO)

近畿大学・薬学部・教授

研究者番号：90294206

研究代表者の専門分野：細胞内情報伝達、ゲノム薬理

科研費の分科・細目：生物系薬学

キーワード：MAP キナーゼ、細胞内シグナル伝達、ゲノム創薬、モデル生物、抗がん活性化化合物の探索

1. 研究計画の概要

本研究課題は、独自の遺伝薬理学的スクリーニングを駆使することにより、ヒトの癌化に重要な役割を果たすMAPキナーゼシグナル伝達経路の制御因子、ならびにMAPキナーゼインヒビターの同定を行い、それらの制御因子や新規化合物がMAPキナーゼを制御するメカニズムを解明することで、抗がん薬を始めとした新規分子標的治療薬の創製の基盤となる知見を得ることを目標としている。具体的には

- (1) 独自のゲノム薬理学的アプローチによるMAPキナーゼ制御因子の同定：研究代表者が発見した<MAPキナーゼとカルシニューリンの拮抗的な関係>に立脚したスクリーニングにより、MAPキナーゼの抑制因子、活性化因子、ならびに標的分子を同定する。
- (2) (1)のスクリーニングにより同定された遺伝子産物の生理機能の解明とMAPKシグナル伝達経路における役割を明らかにすることで、MAPキナーゼ制御の画期的なメカニズムを提唱する。
- (3) (1)のスクリーニングを、薬理学的アプローチへと応用・発展し、MAPキナーゼインヒビターを同定し、さらにその標的分子を同定することにより、ゲノム創薬への応用をめざす。

2. 研究の進捗状況

(1) MAPキナーゼの制御因子と標的分子の同定

：独自のゲノム薬理学アプローチを駆使することにより、dual-specificity MAPKホスファターゼに加えて、Typ2 2Cホスファターゼであ

るPtc1とPtc3がERKホモログであるPmk1シグナルの抑制に関わることを見出した。さらに、p38 MAPKの下流で機能することが報告されていた転写因子Atf1がPmk1 MAPKの標的分子として細胞統御シグナルに関わるという二つのMAPKシグナル間のクロストークを証明した。また、Pmk1とAtf1の共通のターゲット分子であるEcm33を同定し、細胞表面タンパク質としてMAPキナーゼシグナルのネガティブフィードバック制御に関わることを発見した。

(2) MAPキナーゼの *in vivo* real-time

monitoringシステムの確立：(1)で同定したMAPキナーゼの標的転写因子であるAtf1の活性を指標としたルシフェラーゼ遺伝子レポーター構築を作製することにより、Pmk1MAPキナーゼの活性を生体内でモニタリングすることを可能にした画期的なアッセイシステムを確立した。このレポーターシステムを活用することにより、MAPキナーゼが外界からの刺激に応答して活性化するメカニズムを明らかにするのみならず、各種化合物のMAPキナーゼ活性阻害効果をハイスループットにスクリーニングする上でも威力を発揮する。

(3) 新規MAPキナーゼ阻害候補化合物の同定とその標的分子の解明：

(1)のMAPキナーゼシグナル制御因子の探索を創薬スクリーニングへと発展・応用させることにより、MAPキナーゼ阻害活性を有する二種類の新規化合物の発見とその標的分子の同定という快挙をなしとげた。画期的なこととして、代表者の発見したMAPキナーゼ阻害化合物は正常細胞に対する細胞毒性が認められず、

しかも大腸がん細胞や乳がん細胞に対して、既存の抗がん薬よりも強い抗腫瘍活性を示す。この成果は副作用のない新しいメカニズムの分子標的抗がん薬創製に向けての第一歩であり、MAPキナーゼを介する生命現象の解明のみならず、ゲノム創薬や医療におけるインパクトも極めて高い意義を持つと思われる。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

上記のように、MAP キナーゼの新規制御因子を複数同定したことに加えて、標的分子となる転写因子とそのターゲット遺伝子群の同定を通して、MAP キナーゼシグナル活性化のメカニズム、クロストーク機構を解明し、抗がん薬探索のツールを確立した。

さらに、極めて活性が高く、しかも細胞毒性を持たない新規抗腫瘍薬のシーズ化合物の発見と標的分子であるMAPキナーゼを同定した。これらの発見は、高等生物における癌化のメカニズム解明に直結する内容を含んでいる。これらの成果はMol. Biol. Cell誌など欧文一流誌にその成果を発表するとともに、特許出願も行い、その成果を公表した。

4. 今後の研究の推進方策

研究は順調に進行しており、MAPK 制御メカニズムとそのインヒビターの創製に向けて新たな知見が得られている。今後は、独自に開発したゲノム薬理学のアプローチに加えて、in vivo real-time MAPK モニタリングシステムを駆使することで、MAPK シグナル制御の解析に時間的視点を導入する。また、分裂酵母遺伝子ノックアウトコレクションを用いたゲノムワイドな手法により、ケミカルゲノミクス、ならびにケミカルバイオロジーを用いてMAPキナーゼシグナルネットワーク制御の全容を解明していく計画である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 58 件)

Miyatake M, Kuno T, Kita A, Katsura K, Takegawa K, Uno S, Nabata T, and Sugiura R. Valproic Acid Affects Membrane Trafficking and Cell Wall Integrity in Fission Yeast. *Genetics*, 2007 175: 1695 - 1705. 査読有

Takada H, Nishimura M, Asayama Y, Mannse Y, Ishiwata S, Kita A, Doi, A Nishida A, Kai N, Moriuchi S, Tohda H, Giga-Hama Y, Kuno T, and Sugiura R. Atf1 Is a Target of the MAP Kinase Pmk1 and Regulates Cell Integrity in Fission Yeast. *Mol. Biol. Cell*, 2007 18(12):4794-4802. 査読有

Satoh R, Morita T, Takada H, Kita A, Ishiwata S, Doi A, Hagihara K, Taga A, Matsumura Y, Tohda H, and Sugiura R. The Role of the RNA-Binding Protein Nrd1 and

Pmk1 MAPK in the Regulation of Myosin mRNA Stability in Fission Yeast.

Mol. Biol. Cell 2009. 20(9): 2473-2485. 査読有

Takada H, Nishida A, Domae M, Kita A, Yamano Y, Uchida A, Ishiwata S, Fang Y, Zhou X, Masuko T, Kinoshita M, Takehi K, Sugiura R. The Cell Surface Protein Gene *ecm33* is a Target of the Two Transcription Factors Atf1 and Mbx1 and Negatively Regulates Pmk1 MAPK Cell Integrity Signaling in Fission Yeast.

Mol. Biol. Cell 2010. 21(4):674-85. 査読有

[学会発表] (計 215 件)

Symposium : RNA-BINDING PROTEINS AS REGULATORS OF MAPK SIGNALING

Reiko Sugiura The 5th International Fission Yeast Meeting (Pombe 2009)

[図書] (計 5 件)

Sourcebook of Models for Biomedical Research, Ishiwata S, Kuno T, Takada H, Koike A and Sugiura R. Humana Press Inc., 2008, 439-443.

杉浦麗子編著、WELCOME TO ゲノムワールド ゲノム創薬科学最前線、2009年、京都廣川書店、264 ページ

[産業財産権]

○出願状況 (計 15 件)

名称: キャピコール類縁体化合物、キャピコール類縁体化合物の製造方法、およびMAPキナーゼシグナル伝達阻害薬

発明者: 杉浦麗子、萬瀬貴昭、村岡修、吉川雅之、安原智久

権利者: 学校法人近畿大学、株式会社ダイアベティム

産業財産権の種類・番号: 特許・特願 2008-033133 出願年月日: 2008年2月14日 国内・外国の別: 国内

出願と取得の別: 出願

名称: キャピラリー電気泳動による核酸-タンパク質の結合解析法

発明者: 杉浦麗子、多賀淳、石渡俊二、佐藤亮介

権利者: 学校法人近畿大学

産業財産権の種類・番号: 特許・特願 2009-207005

出願年月日: 2009年9月8日

国内・外国の別: 国内

出願と取得の別: 出願

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.phar.kindai.ac.jp/genome/>