

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2019～2021
課題番号：19H02853
研究課題名(和文)ケミカルバイオロジーとゲノム編集で拓く統合的ストレス応答機構の解明と創薬応用

研究課題名(英文)A chemical genetic approach to exploring novel therapeutics targeting the integrated stress response

研究代表者
親泊 政一(OYADOMARI, Seiichi)
徳島大学・先端酵素学研究所・教授

研究者番号：90502534
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：統合的ストレス応答は、アミノ酸飢餓、小胞体ストレス、ウイルス感染、ヘム欠乏など様々なストレス条件で惹起され、その破綻は糖尿病、ウイルス感染、神経変性疾患、癌など様々な疾患の発症に関与することが明らかになりつつある。本研究では、化合物ライブラリーからのスクリーニングを通じて、小胞体ストレスを緩和し、プリオン病(eLife 2019)や糖尿病(Cell Chem Biol. 2022)での細胞変化を改善するような化合物を見出した。また統合的ストレス応答の活性化が食欲を調節する新たな制御機構を見出し、ゲノム編集を用いた実験により実証できた(iScience 2021)。

研究成果の学術的意義や社会的意義
生物はすべからく外界の変化に適応して生き延びるために、ストレス応答を進化させてきた。ストレス応答は生存に必須であり、その破綻や暴走は疾患発症や死に直結する。疾患を克服し、健康寿命を延伸させるには、ストレス抵抗性を獲得する必要がある。そのためにはストレス応答の解明が必須である。本研究では、化合物ライブラリーから探索したヒット化合物を手がかりに、疾患発症に関連する新規のストレス応答機構を発見することができ、また疾患モデル細胞におけるヒット化合物による病態改善効果も実証することができ、学術的にも社会的にも意義のある研究成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：The integrated stress response (ISR) is triggered by various stress conditions such as endoplasmic reticulum (ER) stress, amino acid starvation, viral infection, and heme deficiency, and dysregulation of the ISR is implicated in the pathophysiology of various such as diabetes, neurodegenerative diseases, viral infection, and cancer. In this study, we have identified compounds that alleviate ER stress and ameliorate proteotoxicity in the cellular models of prion diseases (eLife 8, pii: e43302, 2019) and diabetes (Cell Chem Biol. S2451-9456(22)00002-2, 2022) through screening compound libraries. We have also found a novel regulatory mechanism by which activation of the ISR modulates appetite, and we have successfully demonstrated proof of the mechanism by taking advantage of genome editing techniques (iScience 24, 103448, 2021).

研究分野：病態医化学

キーワード：小胞体ストレス応答 ケミカルバイオロジー CRISPR ゲノムワイドスクリーニング

1. 研究開始当初の背景

(1) 生物はすべからく外界の変化に適応して生き延びるために、ストレス応答を進化させてきた。ストレス応答は生存に必須であり、その破綻や暴走は疾患発症や死に直結する。疾患を克服し、健康寿命を延伸させるには、ストレス抵抗性を獲得する必要がある、そのためにはストレス応答の解明が必須である。

(2) タンパク質の合成(翻訳)はもっともエネルギーを消費する過程の一つで、翻訳開始因子であるeIF2のリン酸化は、迅速かつ強力に翻訳を抑制し、エネルギーの保持に働く。eIF2のリン酸化は、翻訳を抑制するだけでなく、ストレス適応に必要な様々な遺伝子の発現を転写誘導する。eIF2のリン酸化は、アミノ酸飢餓、小胞体ストレス、ウイルス感染、ヘム欠乏など様々なストレス条件で惹起され、eIF2リン酸化を起点に翻訳抑制と転写誘導が組み合わさった共通する適応応答が生じるので、統合的ストレス応答と呼ばれる。

(3) 研究代表者や他の研究者らにより、小胞体ストレス応答や統合的ストレス応答の破綻や暴走は、糖尿病、ウイルス感染、神経変性疾患、癌など様々な疾患の発症に関与することが明らかになった。これまでに研究代表者は、小胞体ストレス応答の機構解明(PNAS 2001, JCI 2002, Cell 2006)から、統合的ストレス応答の機構解明(Cell Metab 2008, FASEB J 2016, Cell Rep. 2017, Sci Rep. 2018)を通じてストレス応答について先導的な研究を展開してきた。さらに、それらの研究成果を基に、ストレス制御による疾患克服を目指した創薬に関連した特許も国内8件、海外2件出願している。

2. 研究の目的

(1) 様々な疾患の克服には小胞体ストレス応答の一部を内包する統合的ストレス応答機構の全容を解明することが近道であることから、本研究では、化合物を手掛かりに統合的ストレス応答機構の破綻や暴走による新規の疾患発症機構を解明することを目的にする。

(2) 化合物ライブラリーなどの探索から見出した化合物によるストレス応答経路の制御を確認すると同時に、疾患を模倣した細胞やマウスモデルなどにおいて治療効果を検討することで、新たな治療法に繋がる創薬シーズの創出を目指す。

3. 研究の方法

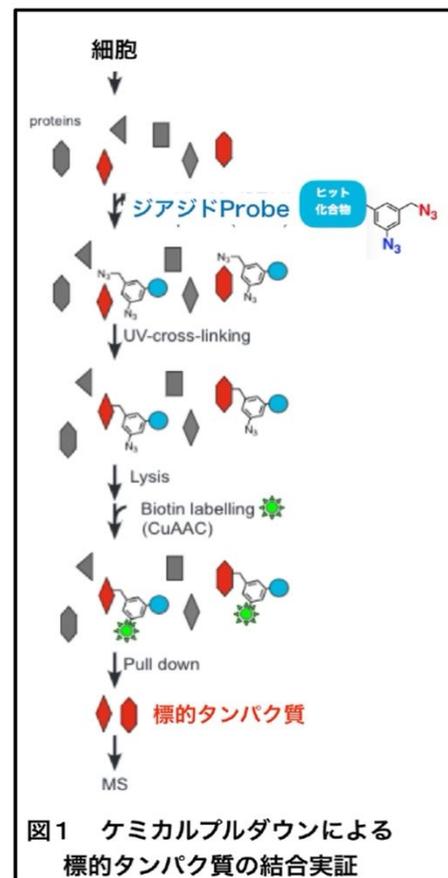
(1) 20万種類以上の低分子化合物で構成されるライブラリーから、すでに開発していたストレス応答を指標にしたスクリーニングシステムで、ストレス応答の活性を抑制する化合物の探索を実施する。

(2) 探索で得られたヒット化合物の標的タンパク質について、図1に示すようなケミカルバイオジーの手法を用いて、ヒット化合物に結合するタンパク質を質量分析によって同定する。

(3) ヒット化合物に結合する化合物として同定されたタンパク質から、真の標的タンパク質となるタンパク質を同定するために、候補タンパク質遺伝子をゲノム編集で破壊した細胞を作成する。

(4) 作成した候補タンパク質遺伝子を破壊した細胞において、ヒット化合物で認められていた作用が消失を認めれば、ゲノム編集で破壊した遺伝子がコードするタンパク質がヒット化合物の標的と同定でき、新たな病態制御機構が明らかになる。

(5) ヒット化合物を、疾患を模倣した細胞やマウスモデルなどに添加あるいは投与することで、病態改善効果があるかどうかを解析することで、ストレス応答制御による新規の治療法の可能性を評価する。



4. 研究成果

(1) 約22万種類の東京大学創薬機構化合物ライブラリーから22万種化合物を探索し、東京医科歯科大学の細谷孝充教授らのグループと共同で、新規同定した化合物IBT21が小胞体ストレスで生じるタンパク質の凝集を抑制することを見出した(図2)。

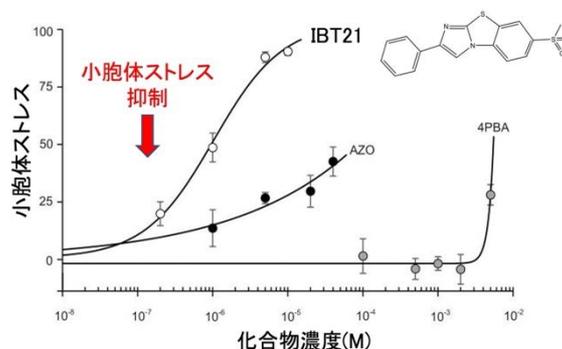


図2 IBT21はこれまで報告された化学シャペロンよりも高い活性を持つ
eLife 8, pii: e43302, 2019

(2) IBT21がどのようにして小胞体ストレスを緩和しているかを明らかにするために、芳香族アジド基と脂肪族アジド基

を導入したIBT21(diazido-IBT21)をプローブとして合成した。このプローブを用いることで、照射すると芳香族アジド基が標的タンパク質中の求核性アミノ酸残基と共有結合を形成でき、さらにクリック反応により脂肪族アジド基にビオチンを付加するとストレプトアビジンビーズでプローブに結合するタンパク質を回収することができた。さらに、質量分析器を用いて解析することで、回収した標的タンパク質を同定することができ、IBT21に選択的に結合するタンパク質の60%近くが小胞体で合成される分泌タンパク質や膜タンパク質であることが見いだすことができた。

(3) IBT21は、神経変性疾患の原因となる誤って折り畳まれたタンパク質の凝集を抑制して細胞保護に働くことから、アルツハイマー病やハンチントン病、プリオン病といった神経変性疾患の新たな治療薬候補となることが期待され、この成果は*eLIFE*誌(2019)に報告した。

(4) 研究期間中に同定した化合物を用いて、統合的ストレス応答関連疾患治療の概念実証に取り組んだ。そして、統合的ストレス応答経路を活性化させる物質として共役リノール酸(t10c12 CLA)を見出し、それに高脂肪食の摂食を減退させる新たな制御機構があることを見出し、*iScience*誌(2021)に報告した。

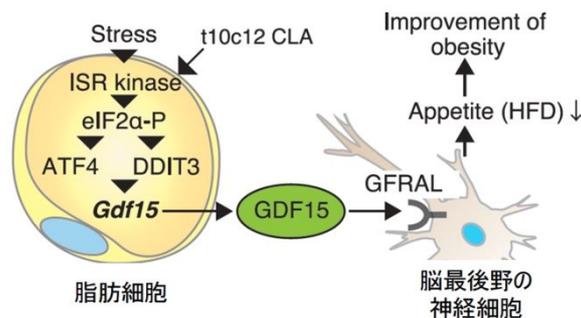


図3 T10c12 CLAは統合的ストレス応答を活性化させて抗肥満作用を示す
iScience 24, 103448, 2021

(5) t10c12 CLAが、脂肪細胞から分泌促進されたGDF15を介して脳に働いて抗肥満作用を持つことは、ゲノム編集にてGDF15受容体であるGFRALを欠失したマウスを作成することで実証することができた(図3)。

(6) 新たに同定した化合物 KM04794 が、小胞体ストレスを緩和して膵細胞のインスリン分泌機能や細胞生存を改善する働きがあることを見出して、*Cell Chemical Biology*誌(2022)に報告した。

発表論文

- (1) Miyake M, Sobajima M, Kurahashi K, Shigenaga A, Denda M, Otaka A, Saio T, Sakane N, Kosako H, Oyadomari S. Identification of an endoplasmic reticulum proteostasis modulator that enhances insulin production in pancreatic cells.

Cell Chem Biol. S2451-9456(22)00002-2. 2022

(2) Miyake M, Zhang J, Yasue A, Hisanaga S, Tsugawa K, Sakaue H, Oyadomari M, Kiyonari H, Oyadomari S. Integrated stress response regulates GDF15 secretion from adipocytes, preferentially suppresses appetite for a high-fat diet and improves obesity.

iScience 24, 103448, 2021

(3) Kitakaze K, Taniuchi S, Kawano E, Hamada Y, Miyake M, Oyadomari M, Kojima H, Kosako H, Kuribara T, Yoshida S, Hosoya T, Oyadomari S. Cell-based HTS identifies a chemical chaperone for preventing ER protein aggregation and proteotoxicity.

eLife 8, pii: e43302, 2019

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyake Masato, Sobajima Mitsuaki, Kurahashi Kiyoe, Shigenaga Akira, Denda Masaya, Otaka Akira, Saio Tomohide, Sakane Naoki, Kosako Hidetaka, Oyadomari Seiichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Identification of an endoplasmic reticulum proteostasis modulator that enhances insulin production in pancreatic cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 S2451-9456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2022.01.002	査読の有無 無
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 Miyake Masato, Zhang Jun, Yasue Akihiro, Hisanaga Satoshi, Tsugawa Kazue, Sakaue Hiroshi, Oyadomari Miho, Kiyonari Hiroshi, Oyadomari Seiichi	4. 巻 24
2. 論文標題 Integrated stress response regulates GDF15 secretion from adipocytes, preferentially suppresses appetite for a high-fat diet and improves obesity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103448 ~ 103448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103448	査読の有無 無
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 Li Jinghe, Inoue Ryota, Togashi Yu, Okuyama Tomoko, Satoh Aoi, Kyohara Mayu, Nishiyama Kuniyuki, Tsuno Takahiro, Miyashita Daisuke, Kin Tatsuya, Shapiro A.M. James, Chew Resilind Su Ern, Teo Adrian Kee Keong, Oyadomari Seiichi, Terauchi Yasuo, Shirakawa Jun	4. 巻 71
2. 論文標題 Imeglimin Ameliorates β -Cell Apoptosis by Modulating the Endoplasmic Reticulum Homeostasis Pathway	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 424 ~ 439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db21-0123	査読の有無 無
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 Kitakaze Keisuke, Oyadomari Miho, Zhang Jun, Hamada Yoshimasa, Takenouchi Yasuhiro, Tsuboi Kazuhito, Inagaki Mai, Tachikawa Masanori, Fujitani Yoshio, Okamoto Yasuo, Oyadomari Seiichi	4. 巻 54
2. 論文標題 ATF4-mediated transcriptional regulation protects against β -cell loss during endoplasmic reticulum stress in a mouse model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Metabolism	6. 最初と最後の頁 101338 ~ 101338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molmet.2021.101338	査読の有無 無
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 Habuta Munenori, Yasue Akihiro, Suzuki Ken-ichi T., Fujita Hirofumi, Sato Keita, Kono Hitomi, Takayama Ayuko, Bando Tetsuya, Miyaishi Satoru, Oyadomari Seiichi, Tanaka Eiji, Ohuchi Hideyo	4. 巻 15
2. 論文標題 Fgf10-CRISPR mosaic mutants demonstrate the gene dose-related loss of the accessory lobe and decrease in the number of alveolar type 2 epithelial cells in mouse lung	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	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) 10.1371/journal.pone.0240333	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 Ikebe Emi, Matsuka Sahoko, Tezuka Kenta, Kuramitsu Madoka, Okuma Kazu, Nakashima Makoto, Kobayashi Seiichiro, Makiyama Junya, Yamagishi Makoto, Oyadomari Seiichi, Uchimar Kaoru, Hamaguchi Isao	4. 巻 4
2. 論文標題 Activation of PERK-ATF4-CHOP pathway as a novel therapeutic approach for efficient elimination of HTLV-1-infected cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 1845 ~ 1858
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2019001139	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 Ichihara Aki, Yasue Akihiro, Mitsui Silvia Naomi, Arai Daishi, Minegishi Yoshiyuki, Oyadomari Seiichi, Imoto Issei, Tanaka Eiji	4. 巻 526
2. 論文標題 The C-terminal region including the MH6 domain of Msx1 regulates skeletal development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 62 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.03.068	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 Hamada Yoshimasa, Furumoto Yuji, Izutani Akira, Taniuchi Shusuke, Miyake Masato, Oyadomari Miho, Teranishi Kenji, Shimomura Naoyuki, Oyadomari Seiichi	4. 巻 15
2. 論文標題 Nanosecond pulsed electric fields induce the integrated stress response via reactive oxygen species-mediated heme-regulated inhibitor (HRI) activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0229948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0229948	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 Kato Hironori, Okabe Kohki, Miyake Masato, Hattori Kazuki, Fukaya Tomohiro, Tanimoto Kousuke, Beini Shi, Mizuguchi Mariko, Torii Satoru, Arakawa Satoko, Ono Masaya, Saito Yusuke, Sugiyama Takashi, Funatsu Takashi, Sato Katsuaki, Shimizu Shigeomi, Oyadomari Seiichi, Ichijo Hidenori, Kadowaki Hisae, Nishitoh Hideki	4. 巻 3
2. 論文標題 ER-resident sensor PERK is essential for mitochondrial thermogenesis in brown adipose tissue	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	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) 10.26508/lsa.201900576	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 Stevens AM, Xiang M, Heppler LN, Toxic I, Jiang K, Munoz JO, Gaikwad AS, Horton TM, Long X, Narayanan P, Seashore EL, Terrell MC, Rashid R, Krueger MJ, Mangubat-Medina AE, Ball ZT, Sumazin P, Walker SR, Hamada Y, Oyadomari S, Redell MS, Frank DA.	4. 巻 3
2. 論文標題 Atovaquone is active against AML by upregulating the integrated stress pathway and suppressing oxidative phosphorylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 4215-4227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2019000499	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 Kitakaze Keisuke, Taniuchi Shusuke, Kawano Eri, Hamada Yoshimasa, Miyake Masato, Oyadomari Miho, Kojima Hirotsu, Kosako Hidetaka, Kuribara Tomoko, Yoshida Suguru, Hosoya Takamitsu, Oyadomari Seiichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Cell-based HTS identifies a chemical chaperone for preventing ER protein aggregation and proteotoxicity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	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) 10.7554/eLife.43302	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0件

〔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
研究分担者	親泊 美帆 (OYADOMARI Miho) (00596158)	徳島大学・先端酵素学研究所・特任助教 (16101)	

	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
研究協力者	細谷 孝充 (HOSODA Takamitsu) (60273124)	東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授 (12602)	
研究協力者	三宅 雅人 (MIYAKE Masato) (30588976)	徳島大学・先端酵素学研究所・准教授 (16101)	
研究協力者	傍島 光昭 (SOBAJIMA Mitsuaki)		

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