

新規ユビキチン修飾による炎症・免疫シグナル制御と悪性リンパ腫

徳永文稔

群馬大学生体調節研究所 分子細胞制御分野

【研究の背景】

我々は、HOIL-1L、HOIP、SHARPIN からなるユビキチンリガーゼ複合体(LUBAC)がユビキチンの N 末端 Met1 を介する「直鎖状ポリユビキチン鎖」という新しい連結様式のポリユビキチン鎖を生成することを世界に先駆けて見いだした(図 1a-c)。さらに、LUBAC は炎症や免疫制御に中枢的な役割を果たす NF- κ B シグナル制御に必須であることを同定し、LUBAC 構成因子の欠損は皮膚炎や二次リンパ器官形成不全を呈することを示した(図 1d、参考・引用文献 1、2)。さらに我々は、LUBAC による NF- κ B 活性化を抑制する脱ユビキチン化酵素として A20 を同定し、A20 の 7 番目の zinc finger(ZF)が直鎖状ユビキチン特異的結合ドメインであることを突き止めた(図 1d、e)。A20 の遺伝子変異は B 細胞リンパ腫の約 20%を占める主要な病因であることが明らかにされているが、我々は A20 の遺伝子変異によって直鎖状ユビキチン結合能を喪失し、NF- κ B 活性を制御できなくなることが悪性リンパ腫発症に重要であることを示した(参考・引用文献 3)。このように我々の研究から、LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成を介した NF- κ B 活性化とこれに拮抗する脱ユビキチン化酵素のバランスが免疫炎症シグナル制御に重要であり、その破綻は液性癌発症に関わることが明らかになってきたが、未だ不明な点も多い。

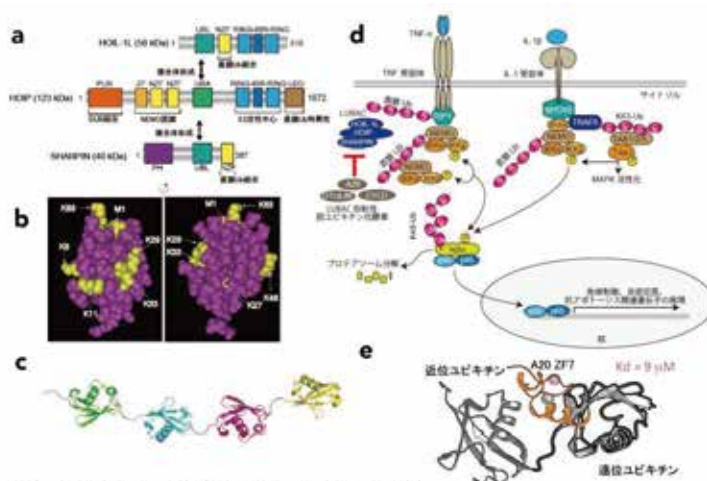


図1 直鎖状ユビキチン鎖によるNF- κ Bシグナル制御。(a) LUBACユビキチンリガーゼ複合体を構成するサブユニットのドメイン構造。(b)ユビキチンの立体構造。ポリユビキチン生成可能な残基を黄色で示した。(c)直鎖状ユビキチン鎖の立体構造。(d)炎症性サイトカイン刺激に伴うNF- κ B活性化における直鎖状ユビキチン鎖の寄与。(e)A20-ZF7と直鎖状ユビキチンの共結晶構造。

【目 的】

そこで本研究では、直鎖状ユビキチン修飾を介した炎症・免疫シグナル制御機構の解明と臨床応用を目的に、NF- κ B シグナル制御の細胞生物学・生化学研究と B 細胞リンパ腫などの疾患を標的とした創薬を目指して化合物探索を行うことを目的とする。

【方 法】

- (1) LUBAC 活性を介した NF- κ B シグナル制御とその破綻による疾患発症機構の解明直鎖状ユビキチン鎖生成を介した NF- κ B 経路調節の生理的・病理的重要性を解析する。
- (2) 直鎖状ユビキチン鎖制御を標的とした新規 NF- κ B 阻害剤探索
直鎖状ユビキチン鎖生成を制御する脱ユビキチン化酵素などの阻害剤を化合物ライブラリーから α スクリーン法にて探索し、生化学的、細胞生物学的に解析し、動物レベルで制癌作用を解析する。

【結 果】

- (1) 脱ユビキチン化酵素 (CYLD) が K63 ユビキチン鎖と直鎖状ユビキチン鎖の両方を分解する構造基盤をX線結晶構造解析によって解明するとともに、NF- κ B や MAP キナーゼシグナル制御との相関を東京大学放射光連携研究機構の深井博士らと解明した (*Nat. Struct. Mol. Biol.*, (2015)、参考・引用文献 4)。
- (2) ヒトT細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) は、成人T細胞白血病 (ATL) を引き起こす。本研究では、ATL では脱ユビキチン化酵素 (A20) が高発現し、A20 の直鎖状ユビキチン結合領域を介してカスパーゼ8と安定的に結合することで、アポトーシス抑制に関わることを東京医科歯科大・山岡教授らとの共同研究によって明らかにした (*Leukemia*, 印刷中、参考・引用文献 5)。
- (3) optineurin は直鎖状ユビキチン結合性を介して、NF- κ B 活性やアポトーシスを制御することや、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 発症と直鎖状ユビキチン鎖が連関することを明らかにした (本財団支援研究として *Nat. Commun.*, にリバイズ中)。
- (4) 直鎖状ユビキチン鎖を分解する脱ユビキチン化酵素に対する化合物探索に着手し、有効なコア化合物 1 種とその展開化合物 3 種を見出した。これらの詳細な生化学的・細胞生物学的解析を進めており、知財獲得などを目指している。

【考 察】

これらの研究から、ユビキチンリガーゼ複合体 (LUBAC) による直鎖状ユビキチン鎖生成を介した炎症免疫シグナルの分子細胞生物学的反応基盤の解明が進み、シグナル伝達やアポトーシスなど基礎的な細胞機能との相関が明らかになってきた。さらに、直鎖状ユビキチン鎖を介した炎症免疫シグナル制御の破綻は、B 細胞リンパ腫、ATL などの癌や ALS などの神経変性疾患との連関が示された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

NF- κ B シグナルの破綻は、多くの固形癌、液性癌、炎症性疾患、自己免疫疾患、神経変性疾患、生活習慣病を引き起こすことが知られるが、本研究から直鎖状ユビキチン化を介する NF- κ B 制御が B 細胞リンパ腫、ATL、ALS に深く関与することが明らかになってきた。また、直鎖状ユビキチン鎖特異的脱ユビキチン化酵素に対する阻害剤候補が同定されたことから、今後これをさらに展開し、細胞毒性が低く選択性の高い阻害剤開発を進めることで NF- κ B 活性不全に関わる疾患を標的とした創薬シーズとして導出することを目指す。これらの研究推進によって、臨床面でも貢献できるよう努める。

【参考・引用文献】

1. Tokunaga F, Sakata S, Saeki Y, Satomi Y, Kirisako T, Kamei K, Nakagawa T, Kato M, Murata S, Yamaoka S, Yamamoto M, Akira S, Takao T, Tanaka K, and Iwai K. Involvement of linear polyubiquitylation of NEMO in NF- κ B activation. *Nature Cell Biol.* 11, 123-132 (2009).
2. Tokunaga F, Nakagawa T, Nakahara M, Saeki Y, Taniguchi M, Sakata S, Tanaka K, Nakano H, and Iwai K. SHARPIN is a component of the NF- κ B activating linear ubiquitin assembly complex. *Nature*, 471, 633-636 (2011).
3. Tokunaga F, Nishimasu H, Ishitani R, Goto E, Noguchi T, Mio K, Kamei K, Ma A, Iwai K, and Nureki O. Specific recognition of linear polyubiquitin by A20 zinc finger 7 is involved in NF- κ B regulation. *EMBO J.* 31, 3856-3870 (2012)
4. Sato Y, Goto E, Shibata Y, Kubota Y, Yamagata A, Goto-Ito S, Kubota K, Inoue J, Takekawa M, Tokunaga F, and Fukai S. Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 22, 222-229 (2015)
5. Saitoh Y, Hamano A, Mochida K, Kakeya A, Uno M, Tsuruyama E, Ichikawa H, Tokunaga F, Utsunomiya A, Watanabe T, and Yamaoka S. A20 targets caspase-8 and FADD to protect HTLV-I infected cells. *Leukemia*, in press