The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	UCS15A, a novel small molecule, SH3 domain-mediated protein-protein interaction blocking drug
Author(s)	小根山, 千歳
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44590
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名　小根山　千　歳（おねやま　ちとせ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　18141　号

学位授与年月日　平成15年9月30日

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位論文名　UCS15A, a novel small molecule, SH3 domain-mediated protein-protein interaction blocking drug
（UCS15Aの作用メカニズム解析－新規低分子SH3結合阻害剤－）

論文審査委員　（主査）
教　授　岡田　雅人

（副査）
教　授　松浦　善治　　教　授　松田　道行

論文内容の要旨

【目的】

Srcキナーゼは、増殖因子やintegrinを介した細胞接着による細胞内シグナル伝達、転写及び細胞骨格形成の制御などに重要な役割を担っている。Srcシグナルが多くのヒトの疾患に関わっていることが明らかとなり、v-Srcを過剰発現した酵母を用いてSrcキナーゼの機能阻害を指標にしたSrc阻害剤の探索を行った。UCS15Aは、本探索系で発見された*Streptomyces sp.*由来の低分子化合物である。この系ではStaurosporinなどの選択性の低いキナーゼ阻害剤が発見されなかったことから、UCS15AはSrcの非キナーゼドメインに作用する化合物であることが示唆された。そこで我々は、Srcシグナル伝達に対するUCS15Aの作用メカニズムの解析を行うこととした。

【方法ならびに成績】

UCS15Aがv-Src過剰発現酵母を用いた探索系においてSrcの機能阻害を示したことから、まずv-Srcを発現した動物細胞におけるUCS15Aの作用を調べることとした。NIH3T3細胞にv-Srcを発現すると形質転換が起こり多くの蛋白質がリン酸化されるが、UCS15AはSrcキナーゼの基質として知られるSam68やCortactinのリン酸化を阻害することが明らかとなった。Srcの基質のリン酸化反応はSrcのキナーゼ活性に依存すると考えられるため、*in vitro*キナーゼアッセイ系においてUCS15Aの作用を調べたところ、UCS15AはSrcのキナーゼ活性に対して阻害作用を示さなかった。また、Srcの安定化に関わるシャペロン蛋白であるHsp90に作用し、Srcの発現量を減少するRadicicolのようなガン細胞のトランスフォームした形態を正常な細胞の形態に戻す作用をUCS15Aは示さなかった。このようにUCS15Aは既存のSrc阻害剤とは異なる新しいタイプのSrc阻害剤であることが示唆された。Src蛋白質はtyrosine kinaseには依存しないSH2、SH3などの機能ドメインを介する蛋白質－蛋白質相互作用によっても細胞内シグナル伝達、骨代謝の制御などに重要な役割を果たしている。そこで、ヒト大腸ガン由来のHCT116細胞を用いて、細胞内のSH3結合に対するUCS15Aの作用を調べたところ、UCS15AはSrcとSam68をはじめとしてCortactinとZO1など広くSH3ドメインを介した結合に対して阻害作用を示すことが明らかとなった。一方でUCS15Aは、EGF刺激によるEGF受容体とGrb2のSH2ドメインを介した結合や、E-カドヘリンとβ-カテニンの結合など他のドメインを介する蛋白質間結合に対しては阻害を示さなかったことから、UCS15AのSH3結合に対する選択性が明らかとなった。さらに、組み換え蛋白質を用いた系により、UCS15AはSH3ドメインを持つ蛋白と結合することが

知られているプロリンリッチ配列に直接作用することにより、プロリンリッチ配列と SH3 ドメインを介する蛋白質ー蛋白質結合を阻害することが示唆された。

【総括】

本研究により、Src 機能阻害剤として発見された UCS15A の Src シグナル伝達における SH3 結合をターゲットとした作用メカニズムが明らかとなった。SH3 ドメインを介した蛋白質ー蛋白質相互作用は、ガン、AIDS、アレルギー、喘息及び骨粗鬆症などの多くのヒトの疾患に関わっていることが明らかにされている。そのため、SH3 結合阻害剤の探索が精力的に行われてきたが、これまでに報告された阻害剤は、合成ペプチドライブラリーやファージディスプレイによって見出されたペプチド関連化合物のみであり、細胞透過性や血中安定性などいくつかの問題を抱えていた。本研究により、UCS15A が初めての非ペプチド性低分子 SH3 結合阻害剤であることが明らかとなり、今後、UCS15A はあらたなタイプのシグナル伝達阻害剤として強い関心を集めるものと考えられる。さらに、UCS15A をリード化合物として、それぞれの SH3 関連疾患に対して特異的な治療薬の開発が期待される。

論文審査の結果の要旨

UCS15A は、癌遺伝子産物 v-Src を発現させた酵母を用いたスクリーニング系において、Src 機能阻害剤として見出された微生物由来の化合物である。本論文では、UCS15A の Src シグナル伝達に対する作用メカニズムの解析を行った。Src 蛋白質は、キナーゼドメインの他に、SH2 や SH3 などの蛋白質間相互作用に関わるドメインもシグナル伝達に重要な役割を担っている。UCS15A の阻害作用の解析を進めた結果、Src と Sam68、Grb2 と Sos1 などの SH3 ドメインを介する蛋白質間相互作用を阻害することが明らかとなった。これらのことから、UCS15A は既存のキナーゼ阻害剤とは異なり、SH3 ドメインを介する蛋白質間相互作用を選択的に阻害する薬剤であることが示唆された。SH3 ドメインを介する蛋白質間相互作用は、癌、AIDS、アレルギー及び骨粗鬆症などの多くのヒトの疾患に関わっていることが明らかにされている。そのため、SH3 ドメインを標的とする初めての低分子阻害剤 UCS15A が、それらの治療薬として有効である可能性が考えられる。以上のように、UCS15A が新たなタイプのシグナル伝達阻害剤であることを明らかにした本研究は、学位に値すると考えられる。