

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	小根山 千歳
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にした。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 Radicol 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-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-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ェ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。