

新規 Rheb 阻害剤のがん進展抑制メカニズムの解明

愛知県がんセンター研究所

腫瘍制御学分野 分野長 小根山千歳

腫瘍制御学分野 研究員 森田知佳

1. 研究の背景・目的

mechanistic target of rapamycin (mTOR) 経路は蛋白質合成や細胞増殖、代謝などの制御において中心的な役割を果たしており、様々ながんで活性化している (Liu et al, Nat Rev Mol Cell Biol, 2020)。mTOR は複数の蛋白質と共に mTORC1 などの巨大複合体を形成して機能する。mTORC1 のリソソームにおける活性化を司る Rheb 蛋白質は様々ながんにおいて発現が亢進しているものの、その発現制御メカニズムは不明な点が多く残されていた。

私たちは mTORC1 活性阻害によるがん細胞の増殖抑制作用を示す化合物を解析する中で、その化合物が Rheb 遺伝子量には作用せず蛋白質量を顕著に抑制することを見出した。近年、標的蛋白質に結合する分子に細胞内の分解経路にホーミングするタグ分子をつなぎ標的の分解を誘導する PROTAC 法が大きな関心を集めているが、本化合物は分子量約 420 の低分子化合物で、PROTAC 様の構造は有しておらず、Rheb 蛋白質量の抑制機構は不明である。一方、これまでに報告された Rheb 蛋白質の機能制御機構には、smgGDS による Rheb 局在制御、Rheb のモノユビキチン化あるいはポリユビキチン化による mTORC1 活性化が挙げられるものの、Rheb 蛋白質発現制御メカニズムは未解明であった。

本研究の目的は、化合物の作用機序解明を通して Rheb 分解の引き金とその本体を明らかにすることである。Rheb 蛋白質の発現制御機構の解明は、mTORC1 の新しい活性化原理の発見につながり、Rheb 蛋白質発現制御メカニズムを標的とした対がん創薬戦略の提示につながる可能性がある。

2. 研究の対象ならびに方法

本研究では、mTORC1 活性の高いがん細胞における本化合物の作用や Rheb 蛋白質量減少メカニズム解明のために① Rheb 分解系の同定、② 化合物の作用メカニズム解明、③ ヒトがんにおける重要性の検証を行うこととした。

3. 研究結果

(1) Rheb 分解系の同定：mTORC1 活性の高い大腸がん細胞株 HCT116 に本 Rheb 阻害剤を添加すると、Rheb のポリユビキチン化が誘導された。ユビキチン活性化酵素 E1 阻害剤 TAK-243 あるいはプロテアソーム阻害剤 MG-132 を同時に処理したところ、Rheb のポリユビキチン化が抑制され、Rheb 蛋白質の発現減少が見られなくなった。このことから、本化合物は Rheb のポリユビキチン化を介してユビキチン-プロテアソーム系による分解を誘導し、細胞内の Rheb 蛋白質量を減少させたことが明らかとなった。さらにポリユビキチン修飾の様式を明らかにするため、ユビキチンのリジン特異的ユビキチン化抗体による解析を行ったところ、本化合物による Rheb のポリユビキチン化は主に、プロテアソームによる分解シグナルとなる 48 番目のリジンだけでなく、シグナル伝達に関わる 63 番目のリジンを介したポリユビキチン化であることが示唆された。

(2) 化合物の作用メカニズムの解明：Rheb はファルネシル基を介した脂肪酸修飾によりリソソーム膜に結合し mTORC1 を活性化することが知られている。そこで本化合物による Rheb の細胞内動態の変化を経時的に共焦点顕微鏡で観察したところ、Rheb のリソソーム膜における局在が変化することが明らかとなった。

(3) ヒトがんにおける重要性の検証：本化合物を大腸がん細胞に処理すると、がん細胞増殖が顕著に抑制されたが、予め Rheb を過剰発現することで化合物による Rheb の発現低下を抑制することにより、がん細胞増殖が回復した。このことから本化合物によるがん細胞増殖抑制作用は、主に Rheb の発現低下の誘導によることが明らかとなった。

4. 考察

本研究により、新規 Rheb 阻害剤は Rheb のユビキチン化誘導およびリソソーム膜における局在阻害によりユビキチン-プロテアソーム系による蛋白質分解を引き起こし、mTORC1 活性の高いがん細胞の増殖を抑制したと考えられた。

5. 文献

なし

6. 論文発表

なし