

PP2A 関連がん促進因子 SET および PME-1 の 新規標的の同定と機能解析

[1] 組織

代表者：大浜 剛

(山口大学共同獣医学部)

対応者：安井 明

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

研究費：物件費 20 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

キナーゼを標的とした分子標的抗がん剤は、現在の医療現場において不可欠な存在であるが、がん細胞の耐性獲得等の問題もあって新たな新薬開発が困難な状況となっている。我々は、重要ながん抑制因子である Protein Phosphatase 2A (PP2A) の活性を回復させる化合物を同定することで、分子標的抗がん剤開発の分野に従来のキナーゼ阻害剤とは逆転の発想である「ホスファターゼを活性化する」創薬という新たな視座を提供することを目指している。

PP2A は細胞内の主要なセリン・スレオニンタンパク質脱リン酸化酵素であり、広範なシグナル伝達系を制御する。また、PP2A は重要ながん抑制因子であることが知られており、多くのがんで PP2A 活性の低下が観察される。がんにおける PP2A 活性の低下には、SET、PME-1 (protein phosphatase methylesterase 1) といった PP2A 阻害タンパク質の発現上昇が深く関与しており、近年これら PP2A 阻害タンパク質を標的として PP2A 活性を回復させることが、新たな抗がん戦略として注目されつつある (図 1)。

これまでに我々は、SET や PME-1 の機能阻害が様々ながん種で抗がん効果を示すことを明らかにしてきた。しかし、shRNA を用いた SET や PME-1 の発現抑制と、阻害剤を用いた SET や PME-1 の PP2A 抑制活性の阻害とでは、がん細胞に見られる表現型が異なることが分かってきた。これは、SET

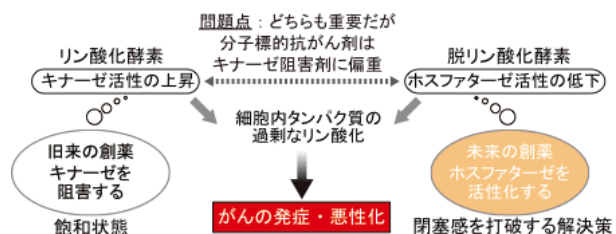


図1 分子標的抗がん剤開発の課題と解決策

や PME-1 が PP2A 非依存的な経路でもがんの悪性化に寄与している可能性を示唆する。

そこで本研究では、SET と PME-1 について新規結合因子を同定し、PP2A 非依存的ながん促進機構を明らかにすることを目的とした。

本研究は、加齢ゲノム制御プロテオーム研究部門の安井明教授、菅野新一郎講師との共同研究として行った。我々が構築したヒト SET の 2 つのアイソフォーム (α および β) と、ヒト PME-1 の野生型および不活性体のプラスミドを元に、安井教授が昆虫細胞でリコンビナントタンパク質を作製し、菅野講師が結合タンパク質の同定を行った。申請では研究経費として研究打ち合わせのための旅費を計上していたが、配分額の関係で打ち合わせはすべてメールにて行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

SET には N 末端の一部のみが異なる 2 つのアイソフォーム SETα および SETβ が存在する。まず我々の研究室で、ヒト SETα および SETβ のクローニングを行い、プラスミドを安井教授のもとへ送付した。安井教授の研究室でバキュロウイルス産生用のプラスミドにサブクローニングを行い、C 末端側に GST タグを融合した全長の SETα および SETβ リコンビナントタンパク質を精製した。このリコンビナントタンパク質と 293T の核抽出液を用いて Pull-down を行った所、多数の非特異的な結合が認められた。これは、SET の C 末端の酸性アミノ酸領域がイオン交換効果で非特異的にタンパク質結合を引き起こすためと考えられた。そこで、C 末端の

酸性アミノ酸領域を欠損させたプラスミドを再構築し、同様の解析を行ったところ、特異性のあるタンパク質の結合が認められた。バンドを切り出し、質量分析によってタンパク質の同定を行ったところ、10個の新規結合タンパク質の候補が同定された。現在、候補タンパク質のクローニングを行い、SETとの結合性の解析を行っている。PME-1については、リコンビナントタンパク質の作製まで行ったが、予算の関係で、質量分析による結合タンパク質の同定には至っていない。

(3-2) 波及効果と発展性など

SETやPME-1は、様々ながん種で発現が上昇しており、予後の悪さとの相関関係も複数報告されている。がん悪性化因子としての機能は、重要ながん抑制因子であるPP2Aの活性阻害によって引き起こされており、SETやPME-1を標的にしてPP2A活性を回復させることで抗がん効果を得るという戦略が注目を集めている。しかし、SETやPME-1のPP2A非依存的な役割についてはほとんど明らかになっておらず、本研究から新規結合タンパク質が同定され、それらのがん細胞内での相互関係および病態機能が明らかになれば、がんの発症・悪性化の分子機構の解明のみならず、抗がん剤創薬の新規標的の提示にもつながる。同定された結合因子がPP2A依存的な抗がん効果に関与している場合は、PP2Aを活性化する薬剤開発への一助になる。また、本共同研究は学外研究者との交流の活性化に寄与したと考える。

[4] 成果資料

現時点で研究成果は未発表である。