

2 選択的オートファジーの自在制御による疾患抑制	有本 博一
--------------------------	-------

【目的】 これまでの低分子量医薬品は、酵素や受容体を主な標的分子としてきた。これらは基質となる化合物と結合する狭い領域を有しているため、低分子で「ふた」をすると「阻害薬」などが創製できる。このアプローチの課題はヒトプロテオームのうち酵素機能を持つものが2割程度に過ぎないことである。足場タンパク質などとして働く大半のタンパク質は、低分子創薬の対象から外れている。

阻害作用に大きく依存した従来型低分子医薬品の欠点を克服するアイデアとして、標的タンパク質を選択分解する手法がある。本研究では、選択的オートファジーを利用して標的を分解する新手法 AUTAC の確立に取り組んだ。

【方法】 S-グアニル化は、A 群レンサ球菌の選択的オートファジーにおいて分解対象を示すタグとして働くことが示唆されている (伊藤、斎藤ら Mol Cell 2013)。そこで、S-グアニル化構造を元にして設計した分解タグと、疾患標的分子に結合する標的化リガンドをリンカーで結合して各種のキメラ分子 (AUTAC) を合成した。助成期間においては、主に機能不全ミトコンドリアの分解を行う AUTAC に重点を置いて検討した。ミトコンドリアの分解は、生細胞イメージング、およびミトコンドリア局在タンパク質 (Tom20、Hsp60、UQCRC1 など) のレベル変化を免疫ブロット法で評価した。

【結果】 ミトコンドリア外膜に分解タグを導入するため、ミトコンドリア局在タンパク質と EGFP-ハロタグとの融合タンパク質 (mito-HT) を HeLa 細胞に一過性発現させた。分解タグを含むハロタグリガンドを投与すると、ミトコンドリア周囲にユビキチン鎖の集積が観測された。しかしながら、健全な HeLa 細胞では、このときミトコンドリアタンパク質レベルは減少しなかった。一方、OPA1 遺伝子の RNAi や CCCP 処理によってミトコンドリアが断片化する条件に置くとミトコンドリアタンパク質の顕著な減少が確認された。続いて、ハロタグ法を用いずにミトコンドリア外膜に直接分解タグを送達できる AUTAC4 を開発し、同様なミトコンドリア分解の結果を得た。

21 番染色体のトリソミーであるダウン症由来繊維芽細胞では、ミトコンドリア機能が低下していることが報告されている (A. Izzo ら Hum Mol Genet 2017)。

ダウン症由来 Detroit532 細胞にハロタグ法もしくは AUTAC4 を用いて分解タグを導入したところ、断片化したミトコンドリアの排除が進み、ミトコンドリア長、ネットワーク数、ATP 産生量が改善した。

