

氏名	上原 泰介		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 8609 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Selective Degradation of Splicing Factor CAPER α by Anticancer Sulfonamides (低分子化合物によるタンパク質代謝の調節に関する研究)		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	谷本啓司
副査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村圭志
副査	筑波大学助教	博士 (生物工学)	金 俊達

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、長年抗がん剤として開発されてきたスルホンアミド化合物 (E7820、E7070 [Indisulam] と Chloroquinoline sulfonamide [CQS]) が、E3 ユビキチンリガーゼ複合体の基質認識タンパク質であるセレブロン CRBN と同じ Cullin 4 (CUL4) の基質認識タンパク質である DCAF15 と結合し、スプライシング因子の一つである CAPER α (別名: RBM39) を選択的に分解誘導することについての研究を行い、その内容を記述したものである。著者は、第一章では序論として、細胞内タンパク質の分解機構ががんの治療標的として注目され、プロテアソーム阻害剤である Bortezomib が多発性骨髄腫の治療薬として顕著な治療効果を発揮していることや、同様の治療薬である Lenalidomide や Thalidomide が E3 ユビキチンリガーゼ複合体の基質認識タンパク質であるセレブロン (CRBN) と結合して、転写因子 IKZF1 および IKZF3 や CK1 α を分解誘導することなど、最新の情報について述べている。

本論文の第二章において著者は、LC-MS/MS を用いた網羅的なプロテオーム解析により薬剤が細胞に与える影響をモニターし、スルホンアミド化合物が大腸がん細胞株 HCT116 と血液がん細胞株 K562 において、CAPER α を選択的に分解誘導することを発見している。さらに著者は、CAPER α の分解を誘導する結合タンパクを同定するために共免疫沈降プロテオーム解析を実施し、CUL4 ユビキチンリガーゼ複合体の構成因子である DCAF15 と DDB1 が化合物依存的に CAPER α と複合体を形成することを明らかにしている。また、CUL4-DCAF15 ユビキチンリガーゼが CAPER α の分解において重要な役割を果たしていることが示唆されたことから、DCAF15 のノックアウト (KO) HCT116 細胞株では、化合物によって誘導されるタンパク質分解作用と細胞増殖阻害に対して抵抗性を有することや、光親和性標識基と融合した E7820 プローブ化合物の直接の標的が DCAF15 であることを見出している。他方、スルホンアミド化合

物処理によって自発的に現れる HCT116 由来耐性変異株の Exome シークエンスを実施し、この耐性株の CAPER α 遺伝子にアミノ酸置換を伴う遺伝子変異が存在することを明らかにするとともに、この遺伝子変異を CRISPR/Cas9 によって K562 細胞株に導入することで、スルホンアミド化合物に対する抵抗性が付与されることを明らかにしている。分子標的がスプライシング因子であることから、著者はスルホンアミド化合物が mRNA スプライシングならびに遺伝子発現に与える影響を qPCR と DNA マイクロアレイによってそれぞれ解析し、化合物が細胞内において VEGFA の選択的スプライシングと広範な遺伝子発現の変化をもたらすことを解明している。

審 査 の 要 旨

タンパク質のユビキチン化は、細胞内における選択的なタンパク質分解を制御する主要なメカニズムとして研究され、細胞周期制御、恒常性維持（ホメオスタシス）、分化制御、遺伝子異常修復など、多様な細胞の機能発現において重要な役割を担っている。しかし、ユビキチン化の多様性を担保する E3 リガーゼが低分子化合物の結合標的になりにくいと考えられていたことが原因となり、臨床分野で実用化されているタンパク質ユビキチン化を標的とした薬剤は少ない。本論文において著者は、細胞周期の変調、血管新生阻害など様々な生理活性をもちながら、その標的分子が不明であったスルホンアミド抗がん剤が Cullin 4 (CUL4) -E3 ユビキチンリガーゼ複合体の基質認識タンパク質である DCAF15 と結合し、CAPER α を選択的に分解誘導することによって、その抗腫瘍効果を発揮することを示している。

著者が解明した抗がん作用は、多発性骨髄腫治療薬として臨床応用されている Lenalidomide ならびに Thalidomide のメカニズムと類似している。本論文は、これまで薬剤開発の対象とはならない undruggable な標的と考えられていた低分子化合物による、ユビキチンリガーゼを介した選択的なタンパク質分解誘導が、新たな創薬戦略として有望であることを考察した研究として評価できる。今後、サリドマイド類縁体やスルホンアミド系抗がん剤の他にも DCAF を介して基質タンパク質を分解誘導する新規低分子化合物の発見が期待される。

平成30年1月19日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。