

平成 29 年度 TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」

調査研究報告書(公開版)

【研究題目】

タンパク質の翻訳後修飾を標的としたがんの新規治療法・診断法の開発に関する調査研究

【整理番号】

TK17-054

【代表機関】

筑波大学

【調査研究代表者（氏名、連絡先 TEL & Mail）】

沖田結花里、029-853-3944、yukari-okita@md.tsukuba.ac.jp

【TIA 内連携機関：連携機関代表者】

菅裕明（東京大学）

広川貴次（産総研）

【TIA 外連携機関】

【報告書作成者】

沖田結花里

【報告書作成年月日】

2018 年 3 月 30 日

【連携推進（具体的な連携推進活動内容とその活動の効果等）】

TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」に採択されたことにより、第 9 回 TIA シンポジウムまた第 2 回 TIA-TLSK ライフイノベーションワークショップにて研究成果やプロジェクトの内容について発表する機会を得ることができた。

大学などのアカデミックの研究者だけではなく、企業で研究している方とも知り合う良い機会となった。また研究内容についてディスカッションする中で、新たな共同研究の可能性にまで話が及び、大変有意義であった。今後さらなる研究の発展のためにも他機関の研究者との連携を強化していきたい。

<TIA 関連イベントでの発表>

1. 第 9 回 TIA シンポジウム（2017 年 10 月 2 日）、沖田結花里、Christopher J Hipolito、山田光博、菅裕明、広川貴次、加藤光保：タンパク質の翻訳後修飾を標的としたがんの新規治療法・診断法の開発、Development of novel therapeutic and diagnostic agents targeting post-translationally modified proteins.
2. 第 2 回 TIA-TLSK ライフイノベーションワークショップ（2018 年 3 月 7 日）、沖田結花里:Glycoprotein nmb (GPNMB)を標的としたがんの新規治療法・診断法の開発に向けて

【調査研究内容（実験等中心に背景・課題と実行された課題解決の内容と結果）】

今回筑波大学、東京大学、産業技術総合研究所の 3 機関が連携し、「タンパク質の翻訳後修飾を標的としたがんの新規治療法・診断法の開発に関する調査研究」というテーマで、TIA 連携プログラム探索推進事業「かけはし」に応募し、採択された。

私たちは、以前トランスフォーミング増殖因子-β (TGF-β) の標的遺伝子として同定した転写因子 MAFK および MAFK の標的遺伝子として新規に同定した Glycoprotein nmb (GPNMB) という 1 回膜貫通型糖タンパク質が、乳がん細胞において発現が亢進しているという知見を得た。MAFK または GPNMB を恒常的に発現させることにより、正常由来の細胞が形質転換し、腫瘍形成能を有すること、また上皮間葉転換 (EMT) を誘導することで、がん細胞の浸潤および転移にも関与していることを明らかにした (Okita et al., Science Signaling 11(474), eaak9397, 2017、発表論文 1)。

将来的に、GPNMB を標的としたがん治療薬を開発したいと考えている。現在までに GPNMB による腫瘍形成能に重要な機能ドメインを複数同定済み、それらに結合する特殊環状ペプチドまたは抗体を作製し、抗腫瘍性のあるものをスクリーニングするという計画である。

東京大学 菅裕明教授は、広範囲のアミノ酸に対応できる人工 RNA の創出に成功した。これはフレキシブルに多くのアミノ酸を連結できる人工 RNA 酵素（リボザイム）という意味を込め、「フレキシザイム」と名付けられ、多様なポリペプチドを自在に創り出せるシステムである。これにより翻訳系できるポリペプチドの中に、修飾アミノ酸や D 体のアミノ酸といった非天然型のアミノ酸を含めることができる。この方法を用いれば、理論上 1 兆もの多様なライブラリーを得ることができ、標的とするタンパク質に特異的に結合する特殊環状ペプチドとその配列情報を得ることができる（RAPID display 技術）。

この技術を用いて、GPNMB に結合する特殊環状ペプチドをスクリーニングする際に、*in silico* 分子シミュレーション技術を用い、ペプチドとタンパク質との結合予測などを行うことで、スクリーニングおよび誘導体作製の効率化が図れないかと考えた。

産業技術総合研究所の広川貴次博士は、分子動力学計算などの技術を駆使して、タンパク質の構造予測、タンパク質のゆらぎによる構造変化の予測、PPI、タンパク質-化合物、タンパク質-天然物の結合予測などをされており、*in silico* 創薬とも呼ばれ、創薬支援の技術として、大いに注目されている。

今回の調査研究期間中に *in silico* 分子シミュレーションによって、GPNMB のタンパク質の 3 予測次元構造を得ることができ、GPNMB 結合ペプチドとの結合予測を行った。予測を基に欠損変異体を作製し、結合部位の特定を進めている。新たに特殊環状ペプチドをスクリーニングするための GPNMB タンパク質の精製がほぼ完了し、スクリーニングを開始する。質量分析法により、GPNMB の翻訳後修飾および結合タンパク質の解析も行い、いくつかの候補を得ることができた。抗体作製を開始し、現在ハイブリドーマのスクリーニングを行っている。

< 発表論文 >

1. Yukari Okita, Minori Kimura, Rudy Xie, Chen Chen, Larina Tzu-Wei Shen, Yurika Kojima, Hiroyuki Suzuki, Masafumi Muratani, Masao Saitoh, Kentaro Semba, Carl-Henrik Heldin, Mitsuyasu Kato: The transcription factor MAFK induces EMT and malignant progression of triple-negative breast cancer cells through its target GPNMB. *Science Signaling*, 10(474): eaak9397, 2017

< プレスリリース >

1. 乳がんの腫瘍形成・転移形成における新たな仕組みの解明～トリプルネガティブ型乳がんの治療標的を求めて～ <http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201704120300.html>
2017 年 4 月 10 日

< 学会発表（報告書作成者筆頭発表のみ） >

1. 沖田結花里、陳 晨、加藤光保：乳がんの発生・進展における GPNMB の役割、第 1 回がん三次元培養研究会、2017 年 12 月 11 日
2. Yukari Okita, Chen Chen, Hiroyuki Suzuki, and Mitsuyasu Kato : Roles of Glycoprotein nmb in breast cancer formation and malignant progression、第 76 回日本癌学会学術総会、2017 年 9 月 28 日～30 日
3. Yukari Okita and Mitsuyasu Kato : Novel therapeutic strategy targeting GPNMB expressing dormant cancer cells、TGF- β meeting in Uppsala、2017 年 8 月 31 日～9 月 2 日

【今後の活動予定】

GPNMB を標的とした新規がん治療薬・診断薬の開発に向けて、今回一定の成果を得ることができたが、今後引き続き共同研究を進め、さらに発展させる必要がある。そのため、TIA 連携プログラム調査研究課題への申請または外部資金獲得のための申請を行う予定である。

以上