

「細胞内シグナル伝達による核酸結合タンパク質の制御機構の 解析：アフィニティキャピラリー電気泳動の応用と創薬への展開」

杉 浦 麗 子
近 畿 大 学 薬 学 部

MAP キナーゼシグナル伝達経路は高度に保存された細胞内シグナル伝達経路であり、細胞増殖や分化などにおいて重要な働きをすることが知られている。ヒトにおいて MAP キナーゼシグナル伝達経路が異常に活性化することにより、様々ながんを引き起こされることが報告されていることから、MAP キナーゼシグナルの活性化と抑制のメカニズムを明らかにすることは、効果的な抗がん剤を開発・創製する上でも、また臨床的にも極めて重要な課題である。

私達の研究室は、ゲノム薬理学的アプローチを駆使することにより、細胞増殖に必須の役割をする MAP キナーゼシグナルの制御メカニズムの解明を目的として、制御因子や標的分子の同定と機能解析を行ってきた。

私達が現在までに発見した MAP キナーゼの抑制因子は、MAP キナーゼを不活性化する dual-specificity MAP キナーゼホスファターゼ Pmp1 (Sugiura et al., EMBO J.), Ptc1, Ptc3 (Takada, Sugiura et al., Molecular Biology of the cell, 2007) などに加えて、数多くの mRNA 結合タンパク質や DNA 結合タンパク質など多岐にわたる。さらに、これらの核酸結合タンパク質が、様々な標的因子との相互作用を通して、MAP キナーゼシグナルの制御に関わることを明らかにしてきた (Sugiura et al., Nature 2003, Takada, Sugiura et al., Molecular Biology of the cell, 2007, Satoh, Sugiura et al., Molecular Biology of the cell, 2009, Takada, Sugiura et al., Molecular Biology of the cell, 2010)。

その中でも特に、KH タイプの mRNA 結合タンパク質である Rnc1 は、MAP キナーゼホスファターゼである Pmp1 の mRNA と結合し、安定化するというメカニズムにより、MAP キナーゼシグナルを抑制化する興味深いタンパク質である (Sugiura et al., Nature 2003)。

驚くべきことに、Rnc1 は MAP キナーゼである Pmk1 にリン酸化されることにより、Pmp1 mRNA との結合能力が制御されることが明らかになった。すなわち様々な刺激により MAP キナーゼが活性化すると、Rnc1 をリン酸化し、リン酸化された Rnc1 はより強く MAP キナーゼホスファターゼである Pmp1 mRNA と結合し、安定化する。Rnc1 との結合により安定化した Pmp1 は MAP キナーゼを脱リン酸化することにより、MAP キナーゼシグナルを不活性化する。すなわち、Rnc1 という RNA 結合タンパク質は RNA を介する MAP キナーゼシグナルのネガティブフィードバック制御の要となる因子である。

これらの成果に基づき、我々はアフィニティキャピラリー電気泳動を用いて Rnc1 タンパク質と Pmp1 mRNA 間の相互作用を定量的に測定する手法を開発したので、紹介する (Taga, Sugiura *et al.*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012)。

さらに我々は、RRM タイプの mRNA 結合タンパク質である Nrd1 を同定し、アフィニティキャピラリー電気泳動の手法を用いて、Nrd1 が標的 mRNA としてミオシン軽鎖の mRNA と結合することにより、細胞質分裂を制御することを明らかにした (Satoh, Sugiura *et al.*, *Molecular Biology of the cell*, 2009)。興味深いことに、Nrd1 は Pmk1 MAP キナーゼによりリン酸化されることで、その RNA 結合能力が負に制御されることも明らかにした。

初めに述べたように MAP キナーゼはその異常な活性化が発がんのメカニズムとも直結していることから、MAP キナーゼの活性を鋭敏に測定できるシステムは抗がん活性を有するシズ化合物の探索や創製において、極めて有用である。Rnc1 と Nrd1 はいずれも MAP キナーゼの標的因子としてリン酸化を受け、その活性が制御されることから、今回我々が開発したアフィニティキャピラリー電気泳動を用いた核酸結合タンパク質の活性測定法は、抗がん剤を探索し、開発するプロセスにおいても、パワフルにその実力を発揮することが期待される。