

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がん関連遺伝子産物の転写後発現調節を標的とした治療法の開発」  
(ユビキチン系を制御する選択的 NF- $\kappa$ B 活性化阻害剤の開発)
2. 研究開発代表者： 岩井 一宏 (国立大学法人京都大学・大学院医学研究科)
3. 研究開発の成果

研究開発代表者が発見した直鎖状ユビキチン鎖は B 細胞リンパ腫をはじめとして種々の悪性腫瘍の発症に関与する NF- $\kappa$ B 活性化やアポトーシスに代表されるプログラム細胞死の抑制に関与する新規シグナル伝達系である。直鎖状ユビキチン鎖は LUBAC ユビキチンリガーゼによって選択的に生成される。LUBAC ユビキチンリガーゼは約 600kD の高分子量複合体であり精製タンパク質標品の確保が困難である。そこで本研究開発では、研究開発代表者らが確立した直鎖状ユビキチン鎖生成活性を有する LUBAC の部分配列 (petit-LUBAC、petit-SHARPIN:特許出願済み) の大量発現精製系で精製した標品を用いて、LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成阻害剤の開発を進めた。本研究開発では、(1) すでに同定していた阻害化合物である Gliotoxin の抗がん剤としての適応の検討を進めるとともに、Gliotoxin がリード化合物とはなり得ない可能性も考慮し、(2) 新規に LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成阻害剤の同定を進めた。

Gliotoxin は試験管内反応で完全長の LUBAC リガーゼによる直鎖状ユビキチン鎖生成を阻害した。さらに細胞レベルでも直鎖状ユビキチン鎖の生成を阻害した。TNF- $\alpha$ 刺激は NF- $\kappa$ B を活性化させるだけではなく、LUBAC が阻害されていれば細胞死を誘発する。Gliotoxin の前処理した細胞では NF- $\kappa$ B 活性が抑制され細胞死が亢進したので、Gliotoxin は細胞レベルで LUBAC の直鎖状ユビキチン鎖生成活性を阻害 NF- $\kappa$ B 活性化などを抑制することが明確となった。Gliotoxin は肺日和見感染症の原因となる真菌であるアスペルギルスの病原性因子で、天然化合物である。細胞毒性が強く、かつ類縁体の化学合成が著しく困難なので、選択的な LUBAC 阻害活性を有するが抗がん剤としての開発は断念し、Gliotoxin 以外の LUBAC 阻害剤の同定を目指した。

petit-LUBAC、petit-SHARPIN を用いた、新たなハイスループット LUBAC 阻害剤スクリーニングシステムを樹立し、約 3 万種の合成化合物、天然化合物をスクリーニングし、複数の候補化合物を同定した。それらの化合物を試験管内反応で完全長 LUBAC リガーゼによる直鎖状ユビキチン鎖生成阻害、細胞内での直鎖状ユビキチン鎖合成阻害、TNF- $\alpha$ 刺激依存的な NF- $\kappa$ B 活性化阻害能の 3 つの二次スクリーニング系を用いて検討し、1 種の天然物由来の化合物 X (Gliotoxin とは異なる) を、真に LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖生成阻害活性を有する化合物として同定した。化合物 X は本化合物のターゲット疾患である ABC タイプのびまん性 B リンパ腫患者さん由来の細胞株の増殖を抑制したが、それ以外の細胞の増殖も抑制する毒性を有していた。そこで、LUBAC を選択的に阻害するリード化合物の同定をすべく、類縁化合物を合成することに関して検討を加えたが、類縁化合物の合成には至らなかった。