

## 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」  
(ErbB3 阻害薬創出につながる新規スクリーニング法の開発)
2. 研究開発代表者： 高井 義美 (国立大学法人神戸大学大学院医学研究科)
3. 研究開発の成果

上皮成長因子 (EGF) 受容体は ErbB1, -2, -3, -4 の 4 つのメンバーからなるファミリーを形成している。正常組織では組織の形成や維持を制御しており、これらの受容体の過剰シグナルはがんの発症・進展に関与している。ErbB2 の過剰シグナルを阻害する抗体はヒト乳がんなどの抗がん剤として使用されているが、最近では ErbB2 以外の ErbB ファミリーメンバーも抗がん剤の重要な標的として注目されている。

研究開発代表者は、ErbB3 と結合しその活性を制御する分子としてタンパク質 X を同定した。タンパク質 X はヒトがん細胞では発現が低下していることが多く、がん抑制因子として機能していることが知られていたが、その作用機構は不明であった。研究開発代表者は、タンパク質 X を細胞に過剰発現させると、下流シグナリングを抑制することで、がん抑制因子として機能することを解明している。平成 26 年度の研究において、タンパク質 X に存在するどのドメインががん抑制因子としての機能に重要なかの検討を行い、下流シグナリングの抑制にドメイン A が関与することを明らかにした。平成 27 年度はその詳細な解析を行い、ドメイン A によってリガンド刺激依存的ながん細胞の運動が抑制されることを明らかにした。さらに、タンパク質 X のドメイン A が作用する ErbB3 側のフラグメントの同定を行い、ErbB3 のドメイン B にタンパク質 X のドメイン A が結合することで、その抑制機能が発揮されることを明らかにした。これらの成果は論文投稿および特許出願に向けて準備を進めた。

また、タンパク質 X のドメイン A と、ErbB3 のドメイン B の結合の阻害作用を測定するハイスループットスクリーニング (HTS) 系の開発に着手した。HTS 系の開発にあたっては、HTS 支援基盤の吉田稔先生 (理化学研究所) のアドバイスを仰ぎ、分泌型スプリットルシフェラーゼの系を用いることにした。この系では、ルシフェラーゼの DNA 配列を適切な部位で二分割し、一方をタンパク質 X のドメイン A に、もう一方を ErbB3 のドメイン B に融合させたタンパク質として発現させる。タンパク質 X のドメイン A と ErbB3 のドメイン B は結合するので、分割されたルシフェラーゼタンパク質断片が物理的に近接し、ルシフェラーゼ活性が検出される。しかし、タンパク質 X のドメイン A と ErbB3 のドメイン B の結合を阻害する分子の存在下では、ルシフェラーゼ活性が検出されなくなる。平成 27 年度にはこのような系の開発のため、必要となる分子の発現ベクターの構築と細胞の準備を行った。