

プロジェクト名：アジアにおける、分子シャペロンを標的とする天然資源化合物研究教育拠点の構築

代表者：仲本 準（大学院理工学研究科・准教授）

1 研究の目的

Hsp70 や Hsp90 などの分子シャペロンは、他のタンパク質（基質）の折りたたみ（protein folding、高次構造形成）を制御するタンパク質である。Hsp70 や Hsp90 の基質には、細胞周期・細胞死・がん化等に関わるタンパク質が多く含まれ、シャペロン機能を阻害するとがん細胞の増殖が抑制される。例えば、Hsp90 の機能を特異的に阻害する抗生物質ゲルダナマイシンやその誘導体は、抗がん剤として臨床試験も行われている。しかしながら、治療薬として認可されるには至っていない。Hsp90 等を分子標的とする化合物の探索・同定はがん等の難病治療薬の開発に重要であると同時に、分子シャペロンの機能を調節する化合物は、シャペロン作用機構の解明等の基礎研究においても有用である。

本研究では、（1）マレーシア、タイ、台湾などの主要な大学あるいは研究所との共同研究を通して、Hsp70 や Hsp90 の機能を調節する小分子化合物を探索し、それらの作用機構等を解明する、（2）共同研究を軸にして、研究者交流やセミナー等を行うことにより、双方の人材の育成を目指すとともに、アジアから優秀な人材（研究者や留学生）を誘致する、（3）有用物質生産・薬剤開発のための研究教育拠点を構築し、埼玉大学の国内外認知度の向上に貢献する、ことを目的とする。

2 研究の進め方及び研究の成果

① マレーシア Universiti Kebangsaan Malaysia との共同研究

アジアは未利用植物資源の宝庫である。特に熱帯林地域には非常に多様な植物が存在し、例えばマレーシアの大学・研究所では、熱帯植物から薬効成分の抽出精製等が盛んに行われている。しかしながら、薬効の作用機序などの解明は進んでいない。国外への持ち出しが困難な熱帯植物資源由来の有用化合物を探索し解析するには国際共同研究が必要である。本プロジェクトの目的は、我々の分子生物学・生化学的技術を駆使して、薬効のある天然化合物が Hsp70 や Hsp90 に及ぼす効果を評価し基礎・応用研究を展開することである。

マレーシア有数の大学である Universiti Kebangsaan Malaysia の Ibrahim Jantan 教授（薬学部長）から抗がん活性のある、数種の天然小分子化合物を譲り受けて、これら化合物の中に Hsp90 を分子標的とし得るものを発見した。その中の一つであるゴニオタラミン（goniothalamin）について詳細に解析してきた。ゴニオタラミンは、がん細胞に対する毒性を示すことが Jantan 教授らによって明らかにされている。本年度はさらに、熱帯から亜熱帯地方で見られるハナショウガ由来の小分子化合物が Hsp90 の活性に及ぼす影響も解析した。この化合物は、2012 年 1 月に Ibrahim Jantan 教授を訪問し、Universiti Kebangsaan Malaysia の薬学部で二回の講演を行った際に、一人の教員から分析を依頼されたものである。この化合物も種々の生理活性をもつことが明らかにされている。

ゴニオタラミンは、シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 の Hsp90 (HtpG) とタンパク質基質との相互作用や Hsp90 の変性タンパク質凝集阻止活性には影響しなかったが、ATPase 活性を増大させることが明らかになった。全長の Hsp90 と Hsp90 の各ドメインとの競合実験を行い、ゴニオタラミンの結合部位が N 末端ドメインに存在することが示された。

ハナショウガ由来の小分子化合物も、シアノバクテリア Hsp90 の ATPase 活性を増大させたが、ゴニオタラミンとは異なり、変性タンパク質凝集阻止活性も増大させた。この化合物が全長 Hsp90 と各

ドメインの構造に及ぼす影響を、トリプトファン蛍光や疎水プローブである bis-ANS を用いて解析したところ、この化合物も N 末ドメインと相互作用することが示唆された。Hsp90 の活性を阻害する化合物と比較すると、促進する小分子化合物に関する報告・研究は皆無に近く、2010 年にトロント大学の Houry 教授らが報告した乳がん治療等に用いられているタモキシフェン (tamoxifen) が唯一の活性化剤である。我々の研究は、Hsp90 の活性を促進する小分子化合物が抗がん作用をもちうるのではないかという新規な仮説を導くものであり、今後この仮説を検証したい。これらの成果の一部を日本分子生物学会 2012 年年会で発表した。

② タイ国立遺伝子工学・生物工学研究所やチュラロンコン大学の訪問・セミナー実施・共同研究

以前から親交のあったタイ国立遺伝子工学・生物工学研究所[National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC)] の Apiradee Hongsthong 博士との (有用物質生産・薬剤開発を目的とした) 共同研究をさらに推し進めるために、平成 24 年度 JST 戦略的国際科学技術協力推進事業「日本-タイ研究交流」研究費の申請を行ったが、採択されなかった。

2012 年 3 月にこの研究所と、King Mongkut's University of Technology-Thonburi 及び Chulalongkorn University (Aran Incharoensakdi 教授) を訪問し、これらの研究所・大学で講演を行った。その結果、Apiradee Hongsthong 博士とは、プロテオーム解析や比較ゲノム研究を共同で行っていくことになった。

③ 台湾の大学・研究所との国際交流の試み

研究室の学生 3 名と共に台湾の著名研究機関を一週間訪問し研究者と討論・意見交換等を行うために、若手研究者交流事業 (公益財団法人交流協会) に応募したが採択されなかった。しかしながら、この申請書作成のために、台湾の 5 名の著名な教授・研究者と連絡を取り合い、我々の研究を紹介するなど情報交換を行うことができた。また、台湾の優秀な学生が我々の研究室で研究を行い博士号を取得するために、平成 25 年度 (秋) 博士後期課程入学試験を受けることになった。

④ 発表論文等

Nakamoto, H. and H. Osada.

Molecular chaperones as drug targets. *Current Pharmaceutical Design* 19:307-308. 2013. 理研の長田裕之客員教授と編集した *Current Pharmaceutical Design* 特集号の巻頭言

Miyata, Y., **H. Nakamoto** and L. Neckers.

The Therapeutic Target Hsp90 and Cancer Hallmarks. *Current Pharmaceutical Design* 19:347-365. 2013.

Nakamoto, H.

Molecular Chaperones and Stress Tolerance in Cyanobacteria.

In: Srivastava, A.K., A.N. Rai and B. A. Neilan, eds., *Stress Biology of Cyanobacteria: Molecular Mechanisms to Cellular Responses*. CRC Press. Chapter 5: pp.113-144. 2013.

3 外部資金の応募・採択状況 (すべて不採択)

- ① 平成 24 年度 (研究期間 2012 /10 /1~2015 /9 /30) JST 戦略的国際科学技術協力推進事業「日本-タイ研究交流」、プロジェクト名「藍藻スピルリナにおける高効率バイオマス生産を可能にする分子シャペロンネットワークの同定」、研究費総額 14,958,000 円
- ② 平成 25~26 年度日本学術振興会「二国間 (日本ハンガリー) 交流事業共同研究」、課題名「生体膜・脂質の品質管理における分子シャペロンの新規機能の解析」、(申請) 総額 5,000,000 円
- ③ 平成 25~26 年度新学術領域研究 (公募研究)、課題名「分子シャペロンと生体膜・膜タンパク質の相互作用を仲介する脂質の研究」、(申請) 総額 9,065,000 円