

TGF- β シグナル依存的な遺伝子発現の活性化機構の一端を解明 ~がん治療に応用可能な新規 TGF- β シグナル制御法開発への期待~

1. 発表者：

- 宮園 健一 (東京大学大学院農学生命科学研究科 応用生命化学専攻
養生訓を科学する医食農連携寄付講座 特任准教授)
- 伊藤 友子 (東京大学大学院農学生命科学研究科 応用生命化学専攻 特任研究員)
- 深津 由衣 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域)
- 和田 ひかる (東京大学大学院農学生命科学研究科 応用生命化学専攻
修士課程2年：当時)
- 栗崎 晃 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科
バイオサイエンス領域 教授)
- 田之倉 優 (東京大学大学院農学生命科学研究科 応用生命化学専攻
養生訓を科学する医食農連携寄付講座 特任教授)

2. 発表のポイント：

- ◆サイトカインの一種である TGF- β は、がんの悪性化（浸潤や転移）を促進します。
- ◆TGF- β シグナル依存的な遺伝子発現の活性化に重要なタンパク質分子間相互作用の構造基盤を明らかにしました。
- ◆得られたタンパク質複合体構造を基とした、あらたな創薬研究の展開が期待されます。

3. 発表概要：

TGF- β は、細胞の増殖や分化を制御する多機能性のサイトカイン（注1）です。TGF- β シグナルの異常な活性化は、がんの悪性化（浸潤や転移）を誘導することが知られており、そのシグナルの阻害は、がんの治療に有効であると考えられています。SMAD2/3 は TGF- β シグナル伝達系において中心的な役割を果たす転写因子であり、転写活性化因子 CBP と結合することによって、シグナル依存的に多様な遺伝子の発現を誘導します。

今回、東京大学大学院農学生命科学研究科の田之倉優特任教授を中心とする研究グループは、X線結晶構造解析法（注2）により、SMAD2 による CBP の認識機構を明らかにしました。また、SMAD2 に対する結合力を強化した改変型の CBP ペプチド断片は、TGF- β シグナル依存的な遺伝子発現の活性化を抑制できることが明らかになりました。

SMAD2/3 による CBP 認識機構の構造基盤が明らかになったことにより、構造に基づいた新規 TGF- β シグナル阻害剤の開発が可能となりました。得られる新規阻害剤は、がんをはじめとする TGF- β シグナル関連疾患の治療への応用が期待されます。

4. 発表内容：

トランスフォーミンググロースファクター β (TGF- β) は、細胞の増殖や分化、細胞死等を制御する多機能性のサイトカインです。そのため TGF- β シグナルの機能不全は、がんや線維症をはじめとする様々な疾病へとつながることが知られています。TGF- β のシグナルは、細胞表面において、SMAD と呼ばれる転写因子群のリン酸化へと変換されます。非常に高い相同性を持つ二つのタンパク質 SMAD2 及び SMAD3 (SMAD2/3) は、細胞内における TGF- β シグナル伝達系のハブとして作用する主要転写因子で、TGF- β のシグナル依存的に活性化（リン酸

化)を受け、様々な遺伝子発現の調節を行います。CREB 結合タンパク質 (CBP) は、ヒストンのアセチル化を通じて転写の活性化を促すことができる転写活性化因子であり、SMAD2/3 依存的な転写の活性化には、CBP が重要な役割を果たしていることが知られています。そこで本研究グループは、SMAD2/3 による CBP の認識機構、つまり SMAD2/3 による遺伝子発現活性化にかかわる構造基盤を明らかにすべく、SMAD2-CBP 複合体の構造学的な解析を行いました。

転写因子である SMAD2/3 は、N 末端側に配列特異的な DNA 結合ドメインである Mad homology (MH) 1 ドメインを、C 末端側にタンパク質分子間相互作用に利用される MH2 ドメインを持ち、その MH2 ドメインを利用して CBP と結合することが知られています。一方、CBP は、その C 末端側に存在する領域を用いて SMAD2/3 と相互作用することが知られています。SMAD2 による CBP 認識機構の構造基盤を明らかにするため、SMAD2 との結合に必要な十分な CBP の領域を決定した後、SMAD2-CBP 複合体の X 線結晶構造解析実験を行いました。SMAD2-CBP 複合体の結晶を作製し、大型放射光施設 (注 3) Photon Factory のタンパク質結晶構造解析用ビームライン AR-NE3A にて X 線回折データの取得を行いました。CBP の SMAD2/3 結合領域は、特定の立体構造をとらない無秩序な領域であるとそのアミノ酸配列から予測されていましたが、得られた X 線回折データを用いて SMAD2 と CBP の複合体構造を決定したところ、CBP は親水的な分子表面と疎水的な分子表面を併せ持つ両親媒性の α ヘリックス構造を形成し、その疎水的な分子表面を利用して SMAD2 と強く結合することが明らかになりました。また、実験の過程で発見・同定された、SMAD2 との結合力が強くなる CBP 改変ペプチド (CBP-E1963L ペプチド) を利用することによって、TGF- β シグナル依存的な遺伝子発現の活性化を抑制できることが分かりました。CBP 改変ペプチドが、SMAD2/3 に対して優先的に結合することにより、CBP 依存的な転写の活性化が抑制されたと考えられます (図)。

今回の研究では、TGF- β シグナル依存的な遺伝子発現の活性化機構の構造基盤を明らかにすることができました。過剰な TGF- β のシグナルは、がんの悪性化 (浸潤や転移など) を誘導するため、その阻害はがんの治療に有効であると考えられています。TGF- β シグナル依存的な遺伝子発現の活性化は、SMAD2/3 と CBP の間の相互作用によって誘導されるため、SMAD2/3-CBP 相互作用の阻害剤は、TGF- β シグナルの新たな阻害剤となるはずですが。今回 SMAD2-CBP 複合体の構造をあきらかにできたことにより、構造に基づいた新規 TGF- β シグナル阻害剤の開発が可能となりました。得られる新規阻害剤は、がん代表される TGF- β シグナル関連疾患の新規治療法の開発へとつながることが期待されます。

本研究は、文部科学省「創薬等支援技術プラットフォーム事業」及び、日本学術振興会科学研究費助成事業 (課題番号 JSPS KAKENHI Grant Numbers 15K14708, 17K19581, 23228003 and 20H02910) の支援を受けて行われました。

5. 発表雑誌:

雑誌名: 「Science Signaling」 (12 月 15 日)

論文タイトル: Structural basis for the transcriptional coactivator recognition mechanism by SMAD2 in TGF- β signaling

著者: Ken-ichi Miyazono, Tomoko Ito, Yui Fukatsu, Hikaru Wada, Akira Kurisaki and Masaru Tanokura*

DOI 番号 : 10.1126/scisignal.abb9043

6. 注意事項 :

日本時間 12 月 16 日 (水) 午前 4 時 (アメリカ東部標準時間 : 12 日 15 日 (火) 午後 2 時) 以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先 :

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 幹細胞工学研究室
教授 栗崎 晃 (くりさき あきら)

Tel : 0743-72-5640

E-mail : akikuri@bs.naist.jp

8. 用語解説 :

(注1) サイトカイン : 細胞から分泌されるタンパク質で、細胞間の情報伝達を媒介する生理活性物質の総称です。標的細胞にシグナルを伝達し、細胞の増殖・分化、細胞死、免疫、炎症反応の制御等、様々な機能を示します。

(注2) X線結晶構造解析法 : 生体高分子の結晶を作製し、そこにX線を照射すると、その結晶に特徴的な回折像が得られます。この回折像は、結晶を形成する分子の構造情報と相関があるので、そのパターンや強度を解析することによって、目的分子の三次元構造を決定することができます。

(注3) 大型放射光施設 : 生体高分子の立体構造解析の精度は、構造解析の際に用いるX線回折データの品質(分解能)に大きく依存します。正確な立体構造を決定するためには、高品質なX線を利用できる大型放射光施設の利用が欠かせません。

9. 添付資料 :

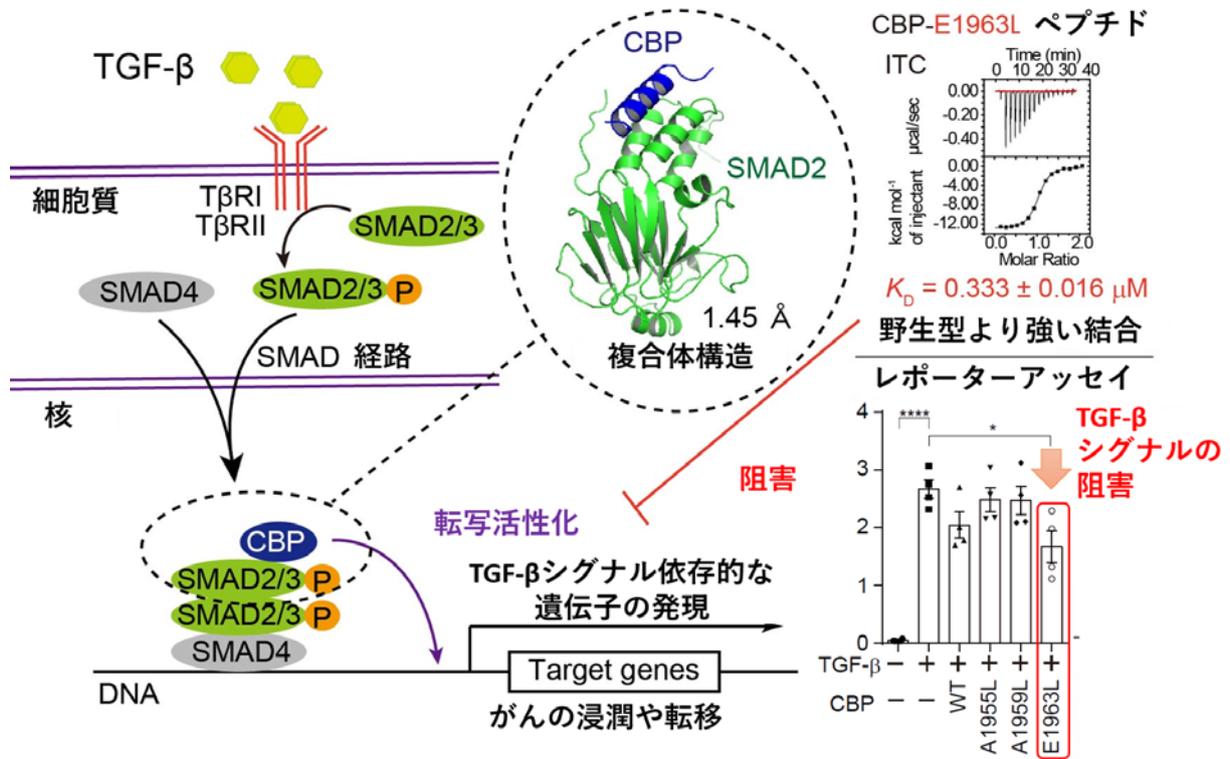


図 : SMAD2/3-CBP 複合体の解析とその制御

TGF-β 依存的な遺伝子発現の活性化には、SMAD2/3-CBP 複合体の形成が必要です。今回の研究では、SMAD2-CBP 複合体の立体構造を X 線結晶構造解析法により決定しました。結合力を強化した CBP ペプチド (CBP-E1963L ペプチド) は、TGF-β シグナルを抑制することができます。