

ID No.	2072
研究課題名	仙波憲太郎（早稲田大学・教授）
研究代表者	膜貫通型プロテアーゼに対して高い特異性を示す阻害剤のスクリーニング
研究組織 受入教員 研究分担者	古川洋一（東京大学医科学研究所・教授）
研究報告書	
<p>我々は、乳がんにおいて主要なドライバー遺伝子である <i>ERBB2(HER2)</i> と協働して細胞の癌化に関わる遺伝子のスクリーニングを行い、その一つとして膜貫通型セリンプロテアーゼ (TTSP) である <i>TMPRSS4</i> 遺伝子を同定した。野生型 <i>ERBB2</i> では腫瘍を作らない条件で、<i>TMPRSS4</i> を <i>ERBB2</i> と共発現させたところ腫瘍が形成された。シグナル経路の解析結果と合わせると、<i>TMPRSS4</i> 単独では腫瘍形成能を持たないが、<i>ERBB2</i> を切断・活性化させることで腫瘍形成に寄与することが明らかになった。<i>ERBB2</i> と <i>TMPRSS4</i> の共発現は軟寒天中のコロニー形成を促進するが、プロテアーゼ阻害剤はコロニー形成を抑制した。しかしながら、現在臨床的に使用可能なプロテアーゼ阻害剤では、<i>in vivo</i> の腫瘍抑制効果がない。そこで、<i>TMPRSS4</i> に特異的で強く活性を抑制する化合物の探索を目的に、スクリーニング系を構築することを目指した。</p> <p><i>TMPRSS4</i> による <i>ERBB2</i> の切断を指標とした阻害剤スクリーニング系について、切断により培地中に放出される細胞外ドメインの直接検出するため、<i>ERBB2</i> の N 末端にアルカリフォスファターゼ (ALP) を融合させた発現ベクターを作製し、ALP-<i>ERBB2</i> が <i>ERBB2</i> と同様に <i>TMPRSS4</i> により切断されることを確認した。しかし、ALP の検出に通常用いられる PNPP を基質とした発色法では、培地中に遊離した切断された細胞外ドメインを効率よく検出することはできなかった。そこで、より高い感度の得られるルシフェラーゼ (nanoLuc) 融合タンパク質を用いた系に着手し、<i>TMPRSS4</i> による <i>ERBB2</i> の切断を培地中に遊離する nanoLuc の活性を測ることで高感度に検出できる系を構築することに成功した。今後、この新たな系を用いて <i>TMPRSS4</i> に特異性を示すプロテアーゼ阻害剤のスクリーニングを進めたい。</p>	