

がんの細胞死を制御するタンパク質の新たなしくみを解明

～HDM2 をターゲットとした新たな抗がん剤開発への応用に期待～

千葉大学大学院薬学研究院 西田紀貴教授、趙慶慈助教、医学薬学府博士課程3年の渡邊一樹氏らのグループは、理化学研究所 杉田有治主任研究員らとの共同研究により、がん抑制因子 p53^{注1)}の分解を誘導するタンパク質 HDM2(human double minute 2)について、p53 との結合を制御するしくみを解明しました。

研究グループは核磁気共鳴(NMR)法^{注2)}と分子動力学(MD)シミュレーション^{注3)}を用いた解析により、HDM2 にはこれまで知られていなかった構造平衡が存在すること、また、ストレス応答による HDM2 のリン酸化はこの構造平衡を変化させることで p53 との結合を抑制することを明らかにしました。

HDM2 は抗がん剤の標的分子として注目されており、本研究で明らかになった HDM2 の立体構造情報は、p53 との相互作用を阻害する新規薬剤の創出に貢献することが期待されます。

本研究成果は 2024 年 3 月 29 日(日本時間)に米国化学会誌 Journal of the American Chemical Society に掲載されます。

■ 研究の背景

HDM2 はがん抑制因子 p53 を標的とする E3 ユビキチンリガーゼ^{注4)}であり、通常時は p53 に結合して分解を誘導することで p53 によるアポトーシス(細胞死)を回避しています。一方で細胞ストレスにより DNA が損傷すると、その応答として HDM2 の 17 番目のセリン(S17)残基がリン酸化され、p53 の結合が抑制されます。その結果、p53 によるアポトーシスが起きることで細胞のがん化を防ぎます。

これまでの構造解析から HDM2 は N 末端に存在する"lid"領域と p53 が結合できる"core"領域から構成され、lid が core から解離した open 構造と、lid が core と結合した closed 構造の 2 状態間での動的な構造平衡状態にあることが知られています(図 1)。この lid 領域が形成する構造平衡と HDM2 による p53 の結合制御は密接な関係にあると考えられていますが、その具体的な構造や、リン酸化が p53 との結合を抑制するメカニズムは不明なままでした。

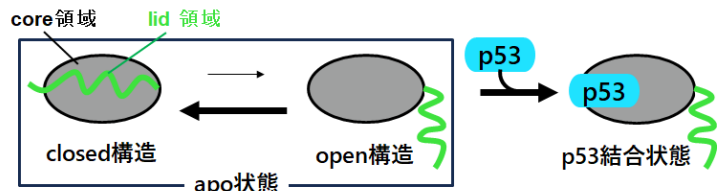


図 1 : apo 状態(p53 非結合状態)の HDM2 において従来考えられていた open-closed 間の構造平衡

■ 研究手法と成果

研究グループはまず水溶液中におけるタンパク質の構造を解析できる NMR 法を用いて HDM2 の動的構造情報の取得を試みました。

その結果、HDM2 内での open-closed 間における遅い交換速度(slow exchange)の構造平衡に加えて、closed 構造の内部において速い交換速度(fast exchange)の構造平衡が存在することが分かりました(図 2a)。

このことから、HDM2 は二つの closed 状態と一つの open 状態を含む複数状態(multi-state)の間の構造平衡を形成することが明らかになりました(図 2b)。

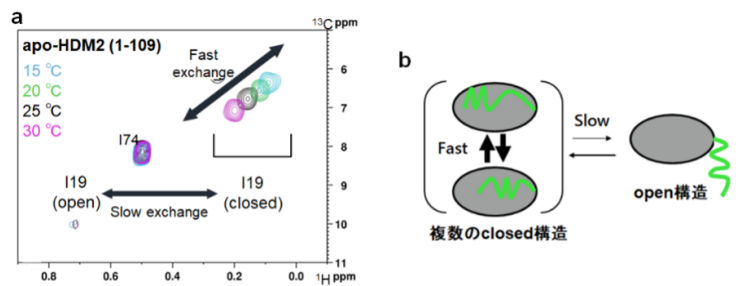


図 2 :
(a)側鎖メチル基の NMR スペクトルの温度依存的な変化
(b)NMR スペクトルから推測される multi-state な構造平衡

次に、研究グループは multi-state な構造平衡を形成する HDM2 の各状態の具体的な構造を明らかにするために、MD シミュレーションを実施しました。その結果、lid が core から解離した複数の open 構

造に加えて、lid が core と近接した二つの closed 構造(closed 1, closed 2) が得られました(図 3a, b)。これら二つの構造は 19 番目のイソロイシン(I19)と 100 番目のチロシン(Y100)の位置関係が異なっており、NMR スペクトルの I19 シグナルの挙動を良く説明するものでした(図 3c, d)。また、closed 1 構造は closed 2 構造よりも open 構造へ遷移しにくいと推測されることから、closed 1-closed 2 平衡のうち、closed 2 構造を介して open 構造へ遷移する構造平衡モデルを提唱しました(図 4a)。さらに、S17 のリン酸化は closed 1 構造の存在割合を増加させ、p53 との結合を抑制することも明らかとなりました(図 4b)。

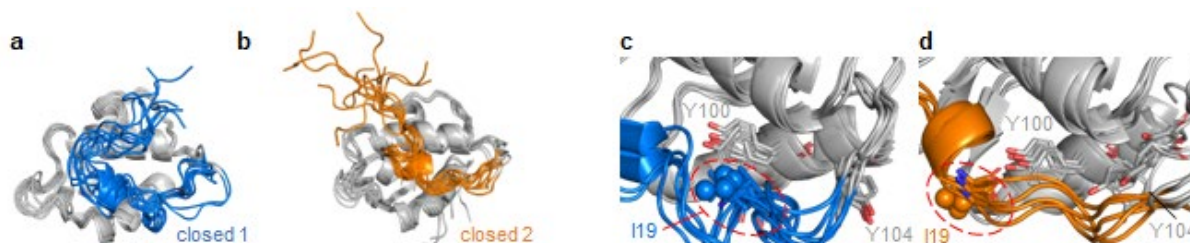


図 3 : MD シミュレーションから得られた closed 1(a), closed 2(b)の重ね合わせ構造。closed 1(c), closed 2(d)の I19-Y100 側鎖近傍の構造。

以上の結果を踏まえて、研究グループは HDM2 の multi-state な構造平衡について、通常時では open 構造の HDM2 が p53 と結合し分解を促進するのに対し、細胞ストレスに応じた S17 リン酸化によって open 構造へ遷移しにくい closed 1 構造が安定化することで open 構造の存在量が減少し、分解を逃れた p53 により細胞のアポトーシスが進行するという、新しい p53 によるアポトーシス誘導の制御機構を提唱しました(図 4)。

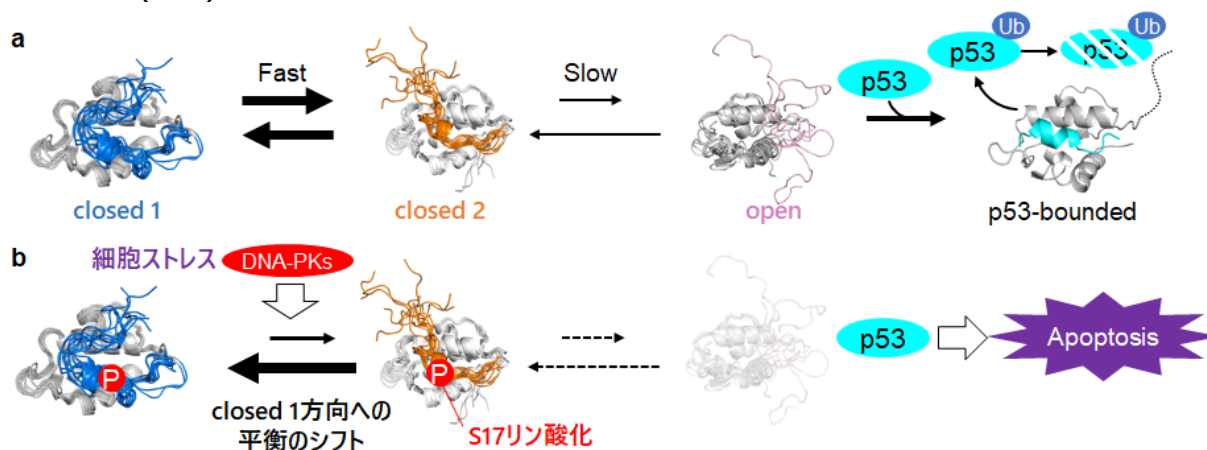


図 4 : 本研究で明らかになった HDM2 の multi-state な構造平衡を介した p53 結合制御モデル

■ 今後の展望

本研究では NMR 法と MD シミュレーションを用いることで、HDM2 が multi-state な構造平衡状態にあることと、各状態の原子レベルでの構造を明らかにしました。また、lid に含まれる S17 残基のリン酸化は closed 1 構造の安定化を引き起こし、open 構造への遷移が起きにくくなることを明らかにしました。HDM2 は抗がん剤開発の標的の一つであることから、今後新たな抗がん剤の開発に向けて本研究で得られた成果の活用が期待されます。

■ 用語解説

注 1)がん抑制因子 p53 : 転写因子としてゲノム DNA と結合することで、細胞増殖の停止・DNA 修復・アポトーシス等に関わる遺伝子を発現させる機能をもつタンパク質。

注 2)核磁気共鳴(NMR)法 : 静磁場中にある原子核に電磁波を照射したときに、原子核がそれぞれの化学的環境に応じた特定の周波数で生じる共鳴現象を観測することでタンパク質など生体分子を含めた物質の構造や運動性を解析する手法。

注3)分子動力学(MD)シミュレーション：原子間に働く力を計算し、ニュートンの運動方程式を繰り返し解くことで、分子の運動を追跡する方法。

注4)E3 ユビキチンリガーゼ：特定の標的に結合し、E2 ユビキチン結合酵素を介して標的へユビキチン分子を転移(ユビキチン化)するタンパク質。細胞内でユビキチン化された標的分子はプロテアソームによる分解を受ける。

■ 論文情報

タイトル：Deciphering the multi-state conformational equilibrium of HDM2 in the regulation of p53 binding: Perspectives from molecular dynamics simulation and NMR analysis

著者：Kazuki Watanabe, Qingci Zhao, Ryosuke Iwatsuki, Ryota Fukui, Weitong Ren, Yuji Sugita, and Noritaka Nishida

雑誌名：Journal of the American Chemical Society

DOI：https://doi.org/10.1021/jacs.3c14383

■ 研究プロジェクトについて

本研究は文部科学省・科研費学術変革領域研究 A「細胞内分子構造動態を解明するためのクロススケール In-cell NMR 解析」(21H05250)、科学技術振興機構(JST)CREST「インセル NMR 計測による細胞内蛋白質の構造・動態・機能解明」(JPMJCR21E5)の支援により遂行されました。

《研究に関するお問い合わせ》

千葉大学大学院薬学研究院

西田 紀貴(教授)

TEL：043-226-2934 メール：nnishida@chiba-u.jp

《JST 事業に関するお問い合わせ》

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

保田 睦子

TEL：03-3512-3524 メール：crest@jst.go.jp

《広報に関するお問い合わせ》

千葉大学広報室

TEL：043-290-2018 メール：koho-press@chiba-u.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL：03-5214-8404 メール：jstkoho@jst.go.jp