

解禁日時:2019年4月12日(金)午前2時(日本時間)

プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY

報道関係各位

2019年 4月 10日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「生物発光共鳴エネルギー移動を基盤としたCXCR4リガンドの高感度スクリーニング法の開発に成功」 — がん細胞を選択的に認識する医薬品開発に道 —

【ポイント】

- がん、白血病、HIV感染症、関節リウマチ等に関与するケモカイン受容体CXCR4^{*1}を標的としたリガンドの高感度スクリーニング法、NanoBRET アッセイ法^{*2}を開発しました。
- 本アッセイ法は、従来の方法に比べ、検出精度が高く、簡便で安全なリガンドスクリーニング法です。
- CXCR4をブロックする抗がん剤等の探索研究の効率化への応用が期待できます。

東京医科歯科大学生体材料工学研究所メディカルケミストリー分野玉村啓和教授の研究グループは、生物発光ドナー(NanoLuc)^{*3}を用いた共鳴エネルギー移動(BRET)^{*4}を活用して、ケモカイン受容体CXCR4のリガンドの高感度スクリーニング法の開発に成功しました。CXCR4は、がん、白血病、HIV感染症、関節リウマチ等に関与する細胞表面の受容体です。この研究成果は、CXCR4を標的とした疾病の治療薬候補品の探索に有用であると考えられます。この研究は文部科学省科学研究費補助金の支援のもとで行われたもので、その研究成果は、アメリカ化学会誌 *Bioconjugate Chemistry* に、2019年4月11日13時(米国東部時間)にオンライン版で発表されます。

【研究の背景】

ケモカイン受容体の一種であるCXCR4は、7回膜貫通Gタンパク質共役型受容体(GPCR)であり、多くのがん細胞において過剰に発現しています。また、HIV感染の受容体のひとつでもあり、関節リウマチ患者のメモリーT細胞表面に過剰発現されることもあります。このことから、抗がん薬、白血病治療薬、抗エイズ薬、抗リウマチ薬等の開発においてCXCR4は重要な標的分子として考えられています。実際に、いくつかのCXCR4アンタゴニストが世界中で臨床試験に進んでいます。このようなリガンドの開発を効率的に推進するためには、受容体に対する結合親和性を簡便に測定する高感度なアッセイ法を確立することが重要です。これまでにCXCR4リガンドのスクリーニング法には、放射性同位元素ラベル化プローブや蛍光プローブを用いる競合阻害法がありましたが、安全性や感度に問題があり、汎用性には限界があるのが現実です。このような欠点を克服し、

CXCR4 をブロックする抗がん薬、白血病治療薬、抗エイズ薬、抗リウマチ薬等の探索研究の効率化を向上させる新たなスクリーニング法の開発が世界レベルで待ち望まれています。

【研究成果の概要】

研究グループは、CXCR4 リガンドのハイスループットスクリーニングツールに有用な NanoBRET アッセイ法を開発しました。リガンドの開発における最も重要なポイントのひとつは、結合親和性を測定する高感度なアッセイ法を確立することです。この系では、CHO 細胞に安定発現した NanoLuc-CXCR4(CXCR4 の N 末端に NanoLuc を付与した)から 460 nm 付近の生物発光エネルギーが生じます。そこに、蛍光ラベル化した CXCR4 アンタゴニストである TAMRA-Ac-TZ14011 を添加すると、TAMRA-Ac-TZ14011 は CXCR4 に結合し、NanoLuc と距離的に近いので、生物発光エネルギーのアクセプターとしてとして機能し、620 nm 付近の蛍光を発します。ここに、テスト化合物が存在し、TAMRA-Ac-TZ14011 と競合的に CXCR4 に結合すると、TAMRA-Ac-TZ14011 が遊離し、蛍光が生じなくなり発光だけが検出できます。すなわち、620 nm での蛍光と 460 nm での発光の比が、テスト化合物の CXCR4 との相互作用の強度に反映されるわけです。この結果、NanoBRET アッセイ法は、TAMRA-Ac-TZ14011 をアクセプターとし、生細胞上の CXCR4 に付与した NanoLuc を生物発光ドナーとして、CXCR4 リガンドの評価に適応可能であることを示すことができます。実際、いくつかの既知 CXCR4 リガンドの IC₅₀ 値は、別法で得られた値と一致し、本法の精度も確認されました。また、NanoLuc-CXCR4 に分泌シグナルを導入する改変により本レセプターの発現と細胞膜への輸送が向上し、NanoBRET アッセイ法のダイナミックレンジも増大しました。以上より、CXCR4 リガンドのマルチウェルプレートスクリーニングに簡便で有用な、生細胞での NanoBRET アッセイ法の開発に成功しました。

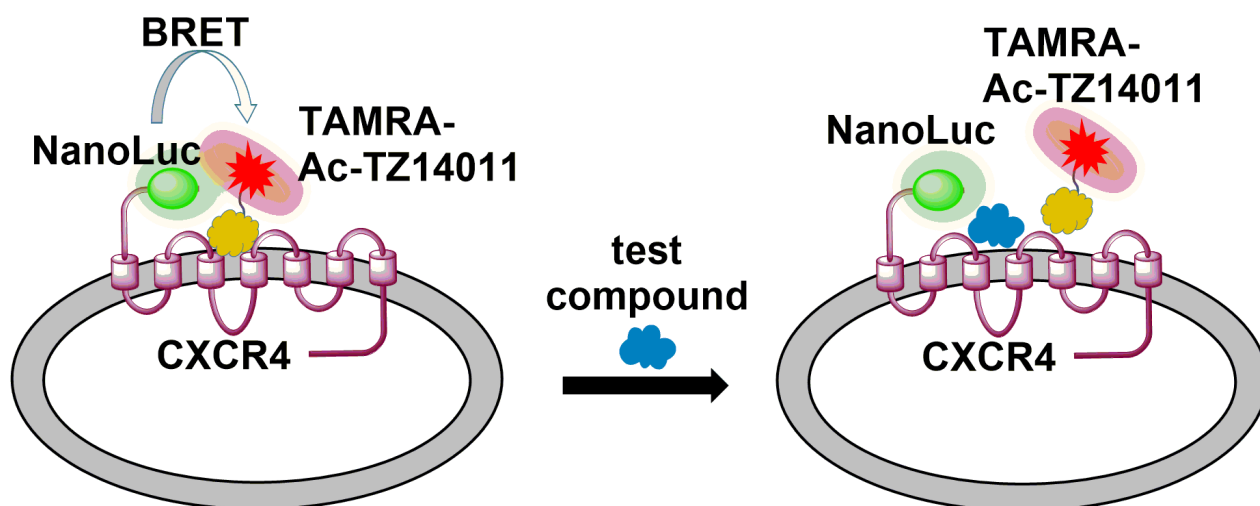


図 NanoBRET アッセイ法によるテスト化合物の CXCR4 結合活性の測定

【研究成果の意義】

研究グループが開発した新たなNanoBRETアッセイ法は、がん、白血病、HIV感染症、関節リウマチ等に関与するCXCR4を標的としたリガンドの探索研究に応用できることが明らかとなりました。本研究成果は、精度が高く、簡便で安全なリガンドスクリーニングに貢献でき、CXCR4をブロックする抗がん薬、白血病治療薬、抗エイズ薬、抗リウマチ薬等の開発研究の効率化が期待できます。

【論文情報】

掲載誌: Bioconjugate Chemistry

論文タイトル: Development of a NanoBRET-based Sensitive Screening Method for CXCR4 Ligands

【用語説明】

*¹CXCR4: ケモカイン受容体の一種で、7回膜貫通Gタンパク質共役型受容体(GPCR)に属する。多くのがん細胞において過剰発現しており、また、HIV感染の受容体のひとつでもあり、関節リウマチ患者のメモリーT細胞表面にも過剰発現されることもある。

*²NanoBRETアッセイ: NanoLucから生じる発光エネルギーによるBRETを利用したアッセイ。

*³Nanoluciferase (NanoLuc): ルシフェラーゼ(luciferase)を(この場合はCXCR4との)融合タンパク質として発現させたもの。基質を投与すると、ルシフェラーゼ活性により発光エネルギーが生じる。

*⁴生物発光共鳴エネルギー移動(bioluminescence resonance energy transfer: BRET): 生物発光基質(供与体/ドナー)が光を発するために使うエネルギーが、近接した蛍光団(受容体/アクセプター)に移動し、アクセプターから蛍光が放射される現象。

【研究者プロフィール】

玉村 啓和 (タマムラ ヒロカズ) Tamamura, Hirokazu

東京医科歯科大学

メディシナルケミストリー分野 教授

・研究領域

創薬化学、ペプチド化学、ケミカルバイオロジー、有機化学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

メディシナルケミストリー分野 氏名玉村啓和(タマムラヒロカズ)

TEL:03-5280-8036 FAX:03-5280-8039

E-mail: tamamura.mr@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp