

免疫抑制剤の新しい作用メカニズムの解明 ——FKBP12 は真菌のイソロイシン生合成酵素を抑制する——

1. 発表者：

佐々木 舞雪（東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 修士課程:研究当時）
西村 慎一（東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 講師）
八代田 陽子（理化学研究所 環境資源科学研究センター 副チームリーダー）
松山 晃久（理化学研究所 環境資源科学研究センター 専任研究員）
掛谷 秀昭（京都大学 大学院 薬学研究科 教授）
吉田 稔（東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用生命工学専攻 教授／
理化学研究所 環境資源科学研究センター グループディレクター）

2. 発表のポイント：

- ◆免疫抑制剤の新しい生物活性を見出し、その作用メカニズムを明らかにしました。
- ◆真菌において免疫抑制剤の標的分子である FKBP12 タンパク質がイソロイシンの生合成酵素にブレーキをかけることを発見しました。
- ◆イソロイシンの生合成酵素の新しい制御メカニズムを詳細に解明することで、抗真菌剤の開発に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

放線菌が産生するタクロリムス（FK506）やラパマイシン（注 1）は免疫抑制剤や難治性リンパ管疾患治療薬として利用されており、それらは細胞内のタンパク質 FKBP12（注 2）に結合して作用を発揮することが知られています。FKBP12 は真核生物に広く保存されていますが、その細胞内での本来の機能はあまりよく分かっていません。東京大学大学院農学生命科学研究科の佐々木舞雪大学院生（研究当時）、西村慎一講師、吉田稔教授らは理化学研究所、京都大学と共同研究を行い、分裂酵母において FKBP12 はアミノ酸の一種であるスレオニンの脱アミノ化を触媒する Tda1 タンパク質の機能を抑制し、それによりイソロイシン（注 3）の生合成を抑制することを明らかにしました。イソロイシンの生合成経路はさまざまな因子により制御を受けることが知られていますが、FKBP12 による抑制はこれまで知られていませんでした。この発見は、FKBP12 がイソロイシンの生合成酵素の活性を制御する役割を持つことを示すとともに、真菌（注 4）にとって重要なイソロイシン生合成経路をヒトは持たないことから、新しい抗真菌剤の開発にもつながることが期待されます。本研究成果は、2022 年 12 月 6 日（米国東部標準時）に米国科学誌「iScience」オンライン版に正式版が掲載されました。

4. 発表内容：

FKBP12 はヒトから微生物まで真核生物に広く保存されたタンパク質で、タンパク質のペプチド結合の異性化を触媒する酵素です。免疫抑制剤である FK506 やラパマイシンは FKBP12 に結合し、その複合体がさらにそれぞれカルシニューリンおよび mTOR 複合体に結合することでそれらの機能を阻害し、免疫反応や細胞増殖を抑制します。FKBP12 は細胞内に豊富に存在するタンパク質のひとつで重要な細胞機能を担っていることが想像できますが、ノックアウトをしてもほとんど効果が見られないことから、その機能について理解されていることはごくわずかです。本研究では FKBP12 がイソロイシン生合成経路で最初に働く酵素であるスレオ

ニンデアミナーゼ Tda1 (図 1、図 2) にブレーキをかけ、それによりイソロイシンの生合成を抑制することを明らかにしました。

本研究は別のアミノ酸であるセリンの代謝を阻害する化合物の探索研究からスタートしました。セリンはメチル基の供給源であり DNA の原料である核酸や細胞膜の構成分子である脂質などの合成原料となります。このため、がん細胞の増殖や転移にはセリンの代謝が重要で、セリンの代謝を阻害する化合物があれば新しい抗がん剤開発の糸口になると考えたからです。そこで真核モデル生物である分裂酵母を用いて、セリンを唯一の窒素源として培地に添加したとき (以後セリン培地と呼ぶ) にのみ細胞増殖を抑制する化合物を探索したところ、免疫抑制剤である FK506 がヒット化合物として得られました。FK506 は FKBP12 に結合して作用を発揮することから FKBP12 に結合するほかの免疫抑制剤・増殖阻害剤であるラパマイシンや、薬理活性を示さない FKBP12 の阻害剤 SLF を試験したところ、いずれもやはりセリン培地において分裂酵母の増殖を抑制しました。また、FKBP12 をコードする遺伝子を破壊したところ、期待通り FKBP12 阻害剤処理と同等の効果を示したことから、分裂酵母がセリンを利用するには FKBP12 が必要であることが明らかになりました。

FKBP12 の下流で働く分子を明らかにするために、細胞内の代謝物を一斉検出するメタボローム解析 (注 5) を行い、遺伝子破壊株や遺伝子発現低下株を用いた遺伝学スクリーニングを行いました。すると FKBP12 の阻害剤により細胞内のスレオニンの蓄積量が変化すること、スレオニンデアミナーゼをコードする *tda1* 遺伝子の発現抑制によりセリン培地で特に細胞増殖が抑制されることが明らかとなり、Tda1 タンパク質が FKBP12 によって調節される相手である可能性が示唆されました。Tda1 はイソロイシンの生合成経路で最初に働く酵素で、*tda1* 遺伝子の発現を強力に抑制するとイソロイシンを合成できず、通常の培地でもイソロイシンがないと細胞が増殖できなくなります。ところが、*tda1* 遺伝子の発現を抑制しても FKBP12 のノックアウトや FKBP12 阻害剤の処理により細胞増殖抑制があまり見られなくなること、FKBP12 をノックアウトした細胞では Tda1 の酵素活性が上昇することが明らかとなり、FKBP12 が Tda1 の酵素活性を抑えていることが示されました。

Tda1 はスレオニンを基質として α -ケト酪酸を合成し、それがイソロイシン合成の基質になります。これまでにイソロイシンが Tda1 タンパク質の活性をフィードバック阻害 (注 6) することや、イソロイシンと似たアミノ酸であるバリンがこのフィードバック阻害を解除することが知られていましたが、本研究により Tda1 はさらに FKBP12 によってブレーキが掛けられていることが明らかになりました。ブレーキをかけることの生理的な意義はいまだ未解明ですが、イソロイシンが細胞内に過剰に存在することは細胞にとって不都合である可能性を示唆しています。また、ほかの真菌類でもスレオニンデアミナーゼが FKBP12 により同様の機能抑制が行われているのかも興味深い点です。これらを解明することによって、ヒトには存在しない Tda1 が真菌の増殖を特異的に抑制するための新たな治療薬ターゲットになることが期待できます。

本研究は、科研費「新学術領域研究 (課題番号: 17H06401)」、「基盤研究 (S) (課題番号: 19H05640)」、「挑戦的研究 (萌芽) (課題番号: 21K19067)」、「基盤研究 (C) (課題番号: 22K05397)」などの支援により実施されました。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「iScience」（オンライン版：12月22日付）

論文タイトル：FK506 binding protein, FKBP12, promotes serine utilization and negatively regulates threonine deaminase in fission yeast.

著者：Mayuki Sasaki, Shinichi Nishimura*, Yoko Yashiroda, Akihisa Matsuyama, Hideaki Kakeya, Minoru Yoshida*

DOI 番号：10.1016/j.isci.2022.105659

アブストラクト URL：[https://www.cell.com/iscience/fulltext/S2589-0042\(22\)01931-9](https://www.cell.com/iscience/fulltext/S2589-0042(22)01931-9)

6. 用語解説：

注 1) タクロリムス (FK506) とラパマイシン：バクテリアの一種である放線菌が産生する生理活性物質で、免疫抑制剤や難治性リンパ管疾患治療薬として用いられている。両薬剤とも FKBP12 に結合し、タクロリムスと FKBP12 の複合体はカルシニューリンに結合し、ラパマイシンと FKBP12 の複合体は mTOR 複合体に結合することでそれらの活性を阻害し薬効を示す。タクロリムスは開発番号である FK506 と呼ばれることも多い。

注 2) FKBP12：細胞内に豊富に存在するタンパク質で、タンパク質のペプチド結合を異性化させる触媒活性を有する。タクロリムス (FK506) の結合タンパク質として同定されたもので、FKBP は FK506-Binding Protein の略、12 は分子量 12 kDa を示す。

注 3) イソロイシン：タンパク質を構成するアミノ酸の一つ。バリン、ロイシンとともに分岐鎖アミノ酸と呼ばれる。ヒトにとっては必須アミノ酸で食事から摂取する必要があり、微生物や植物は細胞内で合成する。

注 4) 真菌：カビやキノコ、酵母を含む真核生物の菌類を指す。人類に有益な種も多いが、重篤な感染症を引き起こす種も多く知られている。ヒトと同じ真核生物であるため抗真菌薬の開発は容易ではなく、真菌のみにみられる細胞機能の発見とそこに特異的に作用する抗生物質の開発が求められている。

注 5) メタボローム解析：メタボライト（代謝物）を一斉検出する解析手法。質量分析計を用いることで、一回の分析で数百以上のメタボライトを検出・同定することができる。

注 6) フィードバック阻害：代謝経路ではたらく酵素がその経路の最終産物により機能阻害を受けることを指す。最終産物の過剰な産生を防ぐ制御機構である。

7. 添付資料：

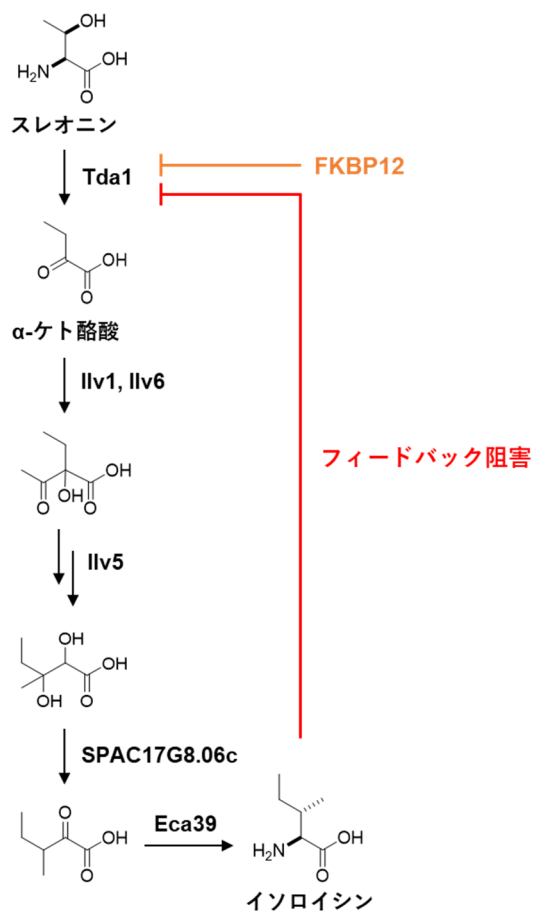


図 1. イソロイシンの生合成経路。スレオニンを出発原料として合成され、最初にはたらく酵素であるスレオニンデアミナーゼ Tda1 は最終産物であるイソロイシンによりフィードバック阻害を受ける（赤）。本研究では Tda1 がさらに FKBP12 により抑制されることを見出した（橙）。

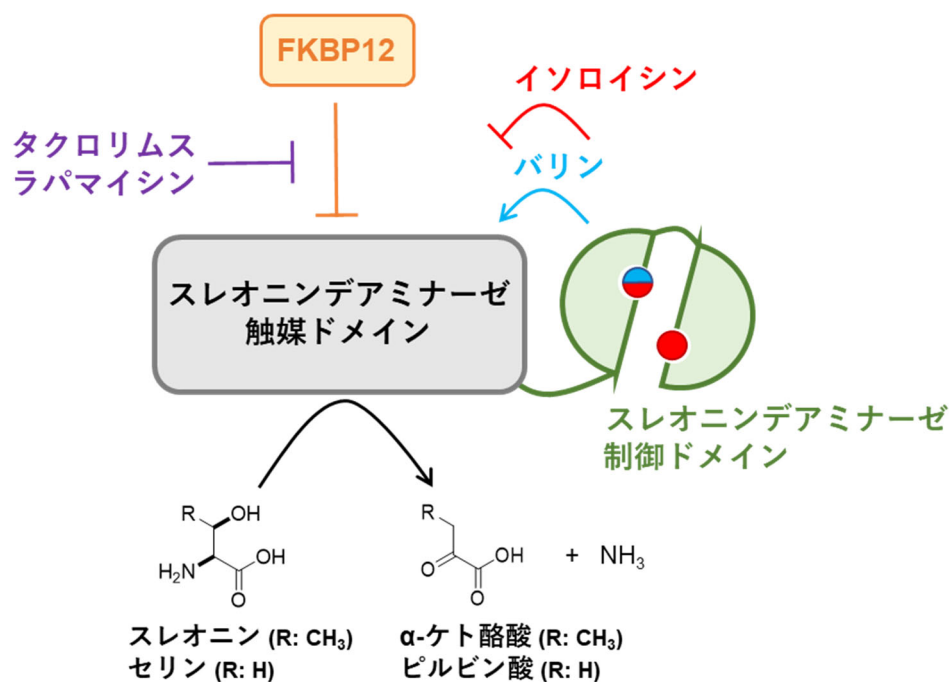


図 2. スレオニンデアミナーゼ Tda1 の機能制御。スレオニンデアミナーゼ Tda1 は触媒ドメイン（グレー）と制御ドメイン（緑）から構成され、触媒ドメインがスレオニンやセリンの脱アミノ化反応を担う。制御ドメインにはイソロイシンやバリンが結合し、触媒活性の阻害や促進を行う。FKBP12（橙）は本研究によって新たに見いだされた抑制因子である。その阻害様式は未解明であり、今後の検討課題である。