

# ダウン症・自閉症関連タンパク質キナーゼ DYRK1A の抑制因子の発見

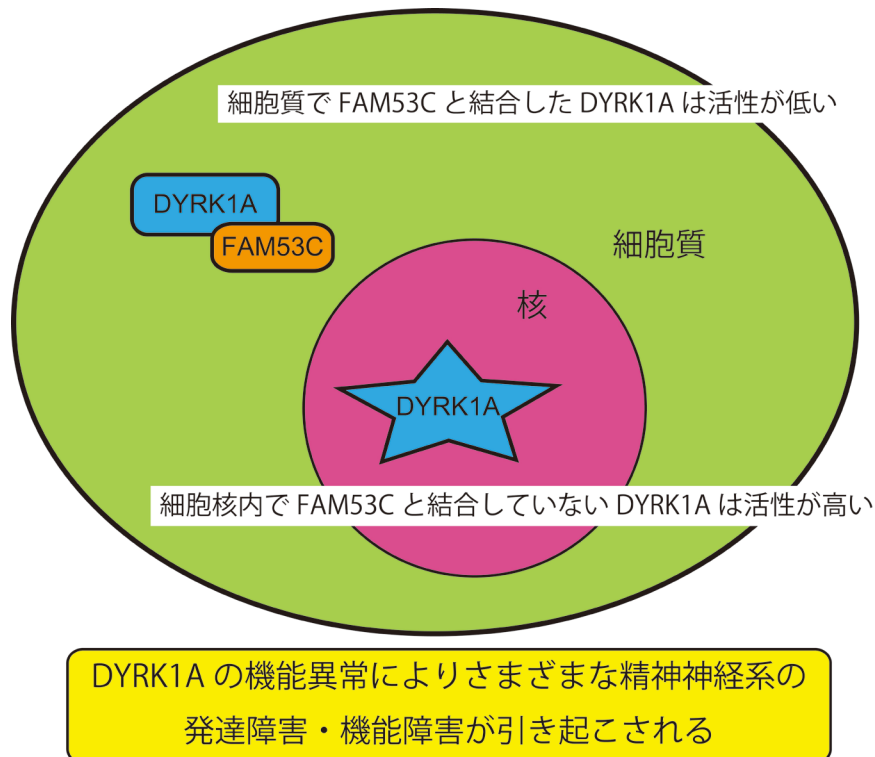
## —FAM53C タンパク質は DYRK1A に結合して活性を低下させる—

### 概要

ダウン症候群はヒトの第 21 番染色体が通常より 1 本多く存在することで発症する先天性疾患です。ダウン症は新生児で最も多い遺伝子疾患でありかつ最も頻繁にみられる精神遅滞の原因です。第 21 番染色体にコードされている DYRK1A というタンパク質キナーゼはダウン症のさまざまな症状に深く関与し、また DYRK1A の機能異常は自閉症スペクトラム症候群の原因ともなる事が知られています。

今回、京都大学大学院 生命科学研究所 宮田愛彦 助教、西田栄介 教授（研究当時、現:理化学研究所）は、細胞内タンパク質相互作用の大規模解析をもとに、DYRK1A と結合するこれまで機能の知られていなかったタンパク質 FAM53C を同定しました。また、FAM53C が DYRK1A のタンパク質キナーゼ活性を抑制し、DYRK1A を細胞質に留める働きを持つことを発見しました。本研究成果は、精神神経系の正常な発達・機能に重要な役割を果たす DYRK1A の細胞内の調節メカニズムの一端を明らかにし、これらの疾患の原因と多様な症状の分子レベルでの解明につながると期待されます。

本研究成果は、2023 年 10 月 6 日に国際学術誌「*Life Science Alliance*」にオンライン掲載されました。



## 1. 背景

ダウン症候群はヒトの第 21 番染色体が通常の 2 本より 1 本多い 3 本存在することで発症する先天性の疾患です。ダウン症は新生児で最も多い遺伝子疾患であり、精神遅滞の最も一般的な原因です。ダウン症では精神神経症状に加えてアルツハイマー病の早期発症、2 型糖尿病の発症、顔面形成の不全などが見られます。この第 21 番染色体にコードされている DYRK1A というタンパク質は、これらのダウン症のさまざまな症状に深く関与しています。更に、DYRK1A の機能異常は自閉症スペクトラム症候群やその他の精神神経疾患の原因の一つである事も知られています。DYRK1A は細胞内シグナル伝達に関するタンパク質キナーゼで、細胞質および細胞核内のさまざまなタンパク質をリン酸化することで、細胞周期、細胞分化、細胞骨格の形成、DNA 損傷応答など、多彩な細胞機能を制御しています。従って、DYRK1A は脳神経系の発生・機能をはじめとする多くの生物学的機能をコントロールする重要なタンパク質と考えられます。DYRK1A はさまざまな疾患治療のための標的分子として近年注目を集め、その活性を調節する低分子化合物の開発が進められています。しかし、細胞の中でどのようにして DYRK1A の活性・機能が制御されているか、そのメカニズムは不明でした。

DYRK1A が細胞内のどこで働くはこれまで議論の的でした。DYRK1A は細胞核への移行を促す配列を持ち、哺乳類の培養細胞に人為的に多量に存在させると主に核に集まります。遺伝子の発現を制御する多くの核内のタンパク質が DYRK1A によってコントロールされることから、DYRK1A が細胞核で機能することは確かです。一方で内在の DYRK1A は培養細胞や生体の脳内では細胞質や細胞骨格に存在し、細胞質でも機能することが報告されていました。DYRK1A が細胞内のどこで働くかはどのようにして決まっているのでしょうか？

私たちは DYRK1A の重要性を考えて、細胞内で DYRK1A がどのような相手と相互作用し、どのように制御され、どのような働きをしているかについて興味をもって研究を続けてきました。私たちは以前に DYRK1A の主要な結合タンパク質として DCAF7/WDR68 を発見しました。次いで DCAF7/WDR68 と細胞内で複合体を形成するタンパク質を質量分析により網羅的に同定しました。この中に DYRK1A と結合してその機能や存在場所をコントロールするタンパク質が含まれると着想し、その解析を進めることで DYRK1A の機能制御メカニズムを明らかにすることを計画しました。

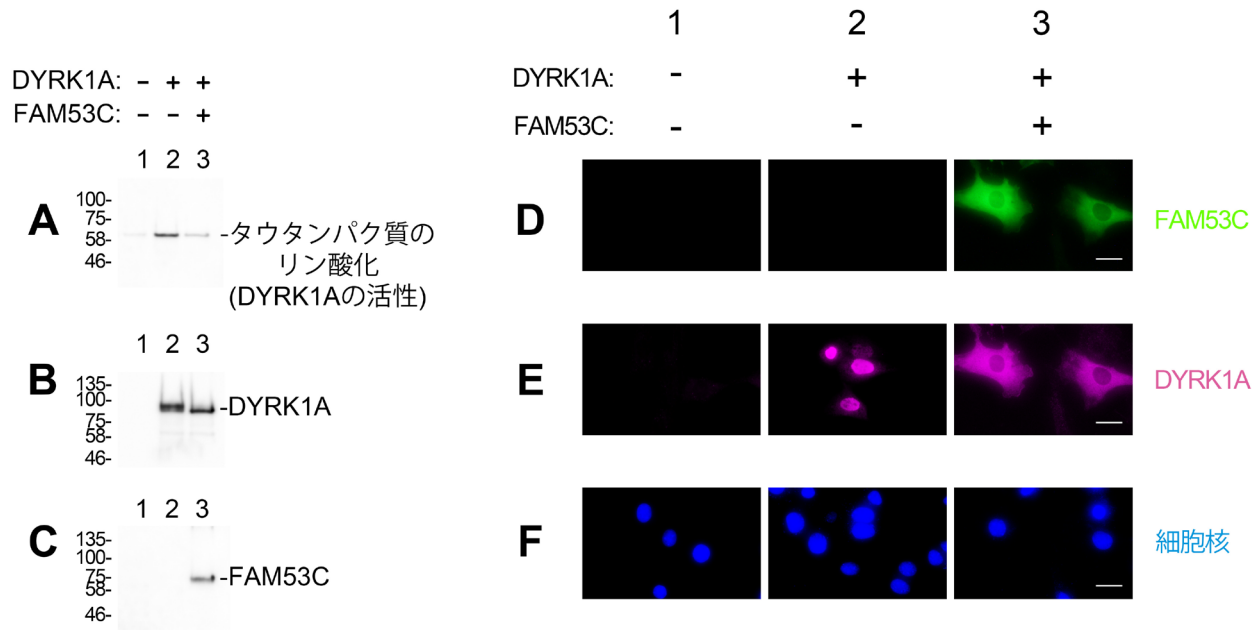
## 2. 研究手法・成果

FAM53C が DYRK1A と相互作用しているのではないか、という最初のヒントは、上で述べた DCAF7/WDR68 結合タンパク質のリストに FAM53C が含まれていた事から得られました。そこで新たに FAM53C を認識する抗体と哺乳類培養細胞に FAM53C を発現させる DNA を単離・作成しました。DYRK1A と共に FAM53C を発現し、互いが結合するかどうかを共免疫沈降法という方法で調べました。また、細胞内で DYRK1A や FAM53C がどのような分布をしているか(核内あるいは細胞質に存在するか)を、発現したタンパク質を色で染め分ける免疫蛍光抗体染色法により顕微鏡で観察しました。DYRK1A のタンパク質キナーゼ活性は、DYRK1A の代表的な基質(ターゲットとしてリン酸化される)であるタウタンパク質(アルツハイマー病患者の脳に蓄積することがその症状と密接に関連することが知られています)を用いて測定しました。

FAM53C はこれまで機能が知られていなかったタンパク質です。コンピューターによる構造解析から、FAM53C タンパク質が非常にフレキシブルな構造を持っていると予想されます。タンパク質結合の解析から FAM53C が DYRK1A と直接結合することが明らかになりました。FAM53C は DYRK1A の分子の中でタンパク質リン酸化反応をつかさどる領域に結合しました。また、DYRK1A は FAM53C と DCAF7/WDR68 の双方と同時に結合して三者複合体を形成する機能を持つことも判明しました。更に、FAM53C と結合すると DYRK1A のタンパク質キナーゼ活性が低下すること・DYRK1A が細胞質に留まることが明らかになりました。

以上の研究結果をまとめると、次のような結論となります。

- これまで機能の知られていなかった FAM53C は DYRK1A と結合するタンパク質である。
- DYRK1A は FAM53C および DCAF7/WDR68 と同時に結合して三者複合体を形成する。
- FAM53C は DYRK1A と結合して DYRK1A の タンパク質キナーゼ 活性を抑制する。
- FAM53C は DYRK1A と結合して DYRK1A が細胞核に移行するのを妨げる。



**図1** DYRK1A のタンパク質キナーゼ活性・細胞内局在に及ぼす FAM53C の効果

培養細胞を用い (1) 何も加えない (2) DYRK1A を単独で発現 (3) DYRK1A を FAM53C と同時に発現した。左側パネルでは DYRK1A の活性に対する FAM53C の影響を調べた。(A) DYRK1A の タンパク質キナーゼ 活性をタウタンパク質のリン酸化を指標に示した。(B) DYRK1A を検出した。(C) FAM53C を検出した。パネル A で“2”に比べて“3”のバンドが非常に薄くなっていることから、DYRK1A の タンパク質キナーゼ 活性が FAM53C によって抑制されている事が判る。左側の小さな数字は分子量を表している。

右側パネルでは DYRK1A の細胞内の存在場所を免疫蛍光抗体染色法により調べた。(D) FAM53C の存在を示した。(E) DYRK1A の局在を示した。(F) 細胞核の場所を示した。パネル E の“2”で核に観察された DYRK1A (赤)が、“3”では FAM53C (D-“3”, 緑)と同様に 細胞質 に広がり丸い核の部分が薄くなっていることから、FAM53C によって DYRK1A が 細胞質 に留められていることが判る。写真右下の白線は 50 μm を示す。

### 3. 波及効果、今後の予定

本研究成果により、FAM53C はこれまで知られていなかった DYRK1A の機能と細胞内存在場所をコントロールする重要なタンパク質であることが明らかになりました。今後は、DYRK1A と結合する新たなタンパク質の発見とその生理的な機能の解明をめざします。また本研究により FAM53C 自体のリン酸化も検出され、FAM53C の機能がリン酸化によりコントロールされる可能性を追求する計画です。精神神経系の正常な発達・働きに重要な役割を果たす DYRK1A の機能や制御機構を明らかにする研究を通して、ダウン症・自閉症ス；ペクトラム症候群をはじめとするヒトの精神神経系の疾患がなぜ起こるのかという疑問に答えることができると考えています。ただし、培養細胞を用いた実験によって得られた研究結果が、ヒトの体の中で起こって

いることを正確に反映しているかどうかについては今後さらに検討が必要です。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は科学研究費補助金基盤研究(C) (課題番号 20570129, 25440046, 18K06131)および京都大学コーステージバックアップ研究費などの支援を受けて行なわれました。

##### <用語解説>

**タンパク質キナーゼ**：タンパク質リン酸化酵素

**自閉症スペクトラム症候群**：主にコミュニケーションや言語に関する症状を示す、自閉症・アスペルガー症候群・一部の発達障害などを含む、複雑で多様な症状をもつ神経発達症候群の一つ

**細胞質**：細胞の細胞膜で囲まれた部分のうち、細胞核以外の領域

##### <研究者のコメント>

「ダウン症候群・自閉症スペクトラム症候群をはじめとするさまざまな精神神経系疾患の原因となるタンパク質キナーゼ DYRK1A に結合してその活性・局在を制御する FAM53C タンパク質を同定しました。本研究成果が将来いつの日か、これらの疾患の発症予防・治療の助けにつながる事を期待しています。非常に複雑なヒトの脳の発達・活動が分子のレベルで調節されていることに興味をもっており、さらに研究を進展させたいと考えています。」(宮田愛彦)

##### <論文タイトルと著者>

タイトル Identification of FAM53C as a cytosolic-anchoring inhibitory binding protein of the kinase DYRK1A (DYRK1A キナーゼの細胞質アンカリング抑制性結合タンパク質 FAM53C の同定)

著者 Yoshihiko Miyata, Eisuke Nishida

掲載誌 *Life Science Alliance* 6:e202302129, 2023.

DOI 10.26508/lsa.202302129