

## 文部科学省と国立大学附置研究所・センター 個別定例ランチミーティング

### 第66回 愛媛大学 プロテオサイエンスセンター (2023.11.24)

- 12:05 – 12:10( 5分) : 研究所・センターの概要  
センター長 澤崎 達也
- 12:10 – 12:25(15分) : 若手研究者からのプレゼン  
愛媛大学PROS独自のタンパク質研究技術を基盤にした研究
- ・サリドマイド催奇性の分子メカニズムの解明
  - ・次世代治療薬「タンパク質分解誘導剤」の解析技術開発
- 特定助教 山中 聡士
- 12:25 – 12:45(20分) : 質疑応答

# プロテオサイエンスセンター

**沿革** タンパク質に関する研究を行うと共に、国内・国外での、この分野の研究に従事する者の利用に供する。

2003年 無細胞生命科学工学研究センターの設立  
(工学部・理学部からの教員：4部門)

2013年 プロテオサイエンスセンターとして改組  
(医学部からの4研究室を加え：12部門)

2021年 PRiME (共同利用・共同研究拠点認定)

2022年度～  **PRiME**  
PROS Joint Research Program for Protein Interactions



## ミッション

タンパク質を対象とした、生命機能や感染症・疾患機構の解明およびタンパク質解析に関する新技術の開発を進め、タンパク質利用の実用化を推進して、タンパク質科学の技術革新の基盤構築と、健康社会を実現する。

## 第4期中期計画における課題

### ● “世界の未来を切り拓く”

- 1) 新たな学問領域の創出および生命科学分野の人材育成
- 2) 企業も含めたイノベーションの創出
- 3) 国際的な共同研究の発展

### ● “地域とともに新しい価値を創る”

- 愛媛県の強みである個性豊かな農業・水産業に対して、
- 1) 独自バイオ技術を融合させ新しい価値を付加した商品の開発などに貢献し地域バイオ産業のハブとして機能する

# タンパク質研究を主とする研究所・センター

全国の共同利用・共同研究拠点**108**拠点中  
タンパク質を主とする拠点は**2**拠点

## PROS

Proteo-Science Center, Ehime Univ.

愛媛大学

プロテオサイエンスセンター

タンパク質の機能解析  
相互作用解析  
複合体解析  
創薬モダリティ創出

連携

INSTITUTE for  
PROTEIN RESEARCH  
大阪大学 蛋白質研究所

タンパク質の構造科学



# P R O S 独 自 技 術

## コムギ無細胞 タンパク質合成技術

抽出液を用いてタンパク質を合成する

**世界No.1の真核生物型無細胞系**

## 大規模タンパク質セットとスクリーニングシステム

ヒト	28,000 種
マラリア	3,000 種
ウイルス	~200 種
その他	>10,000 種

マウスや植物など

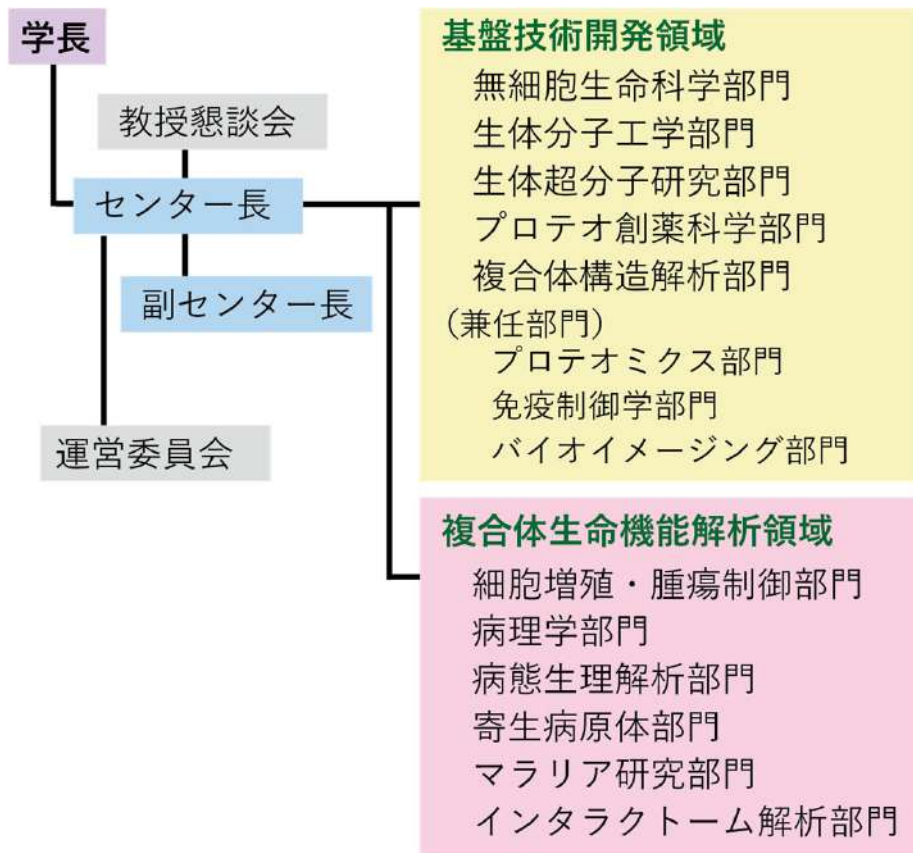
**AlphaScreen 法**  
プロテインアレイを用いたインタクトーム解析技術  
**世界No.1のタンパク質保有数と相互作用解析技術**

## 近位依存性標識酵素 (AirID)

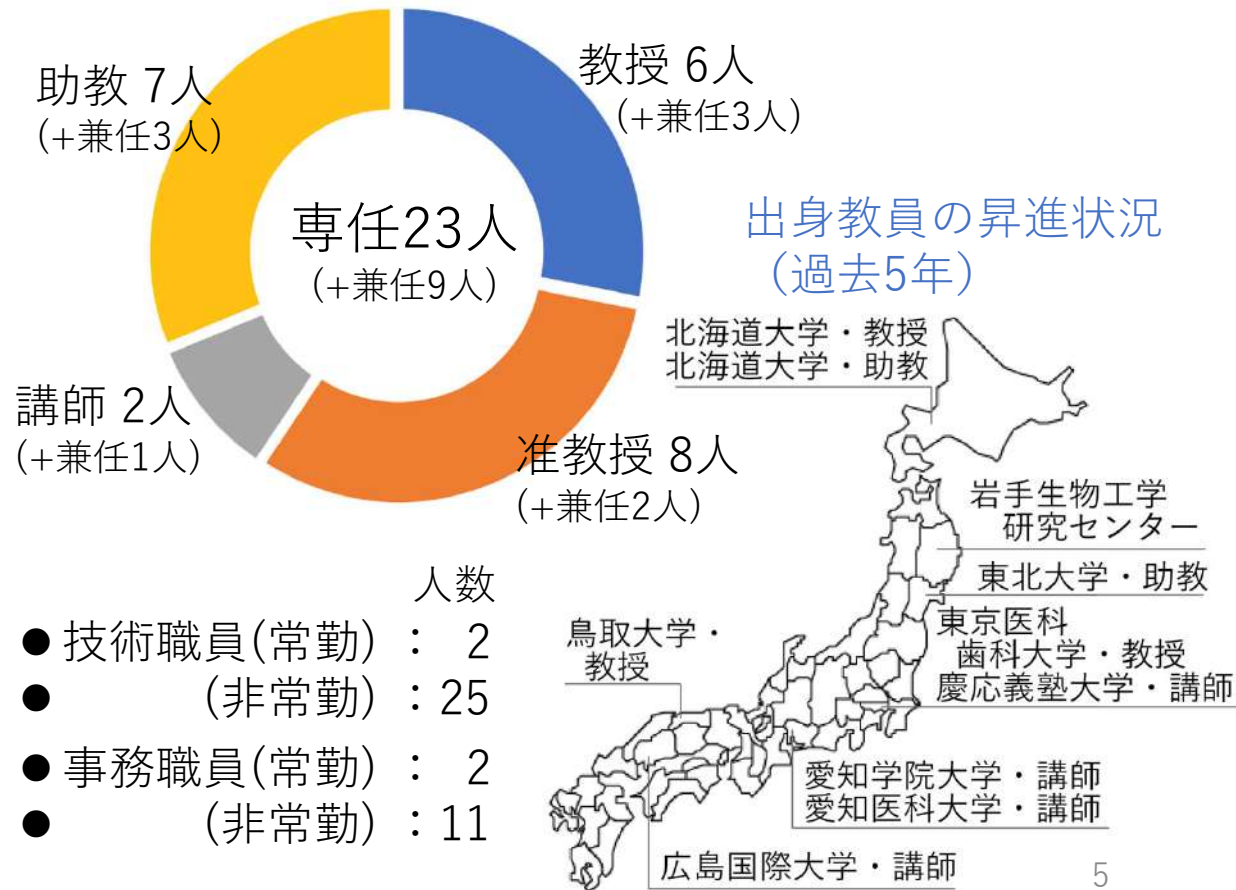
**世界No.1の生体内インタクトーム解析用酵素**

# 組織・人員構成

**組織** 工学部・理学部・医学部の研究者が  
集合した異分野融合型組織

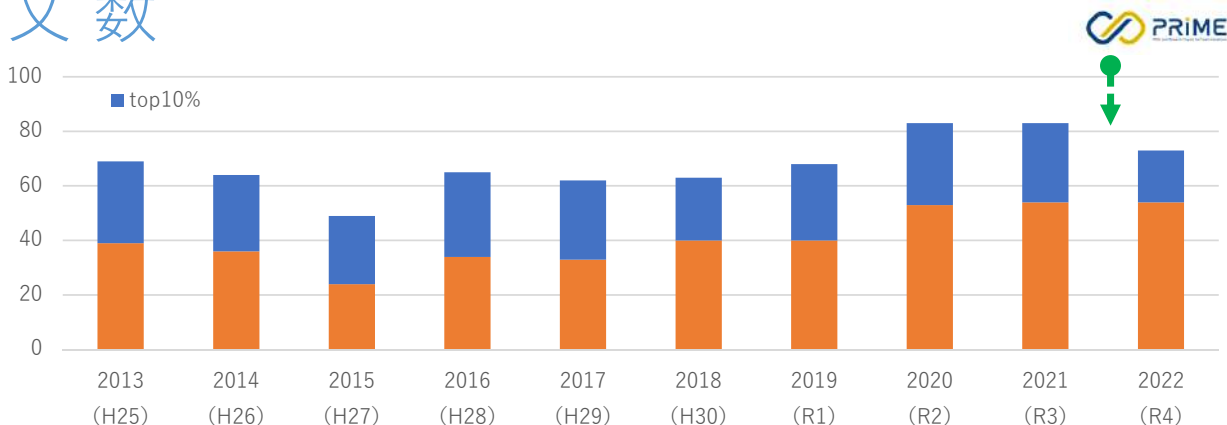


## 教職員



# 研究力・研究費の推移

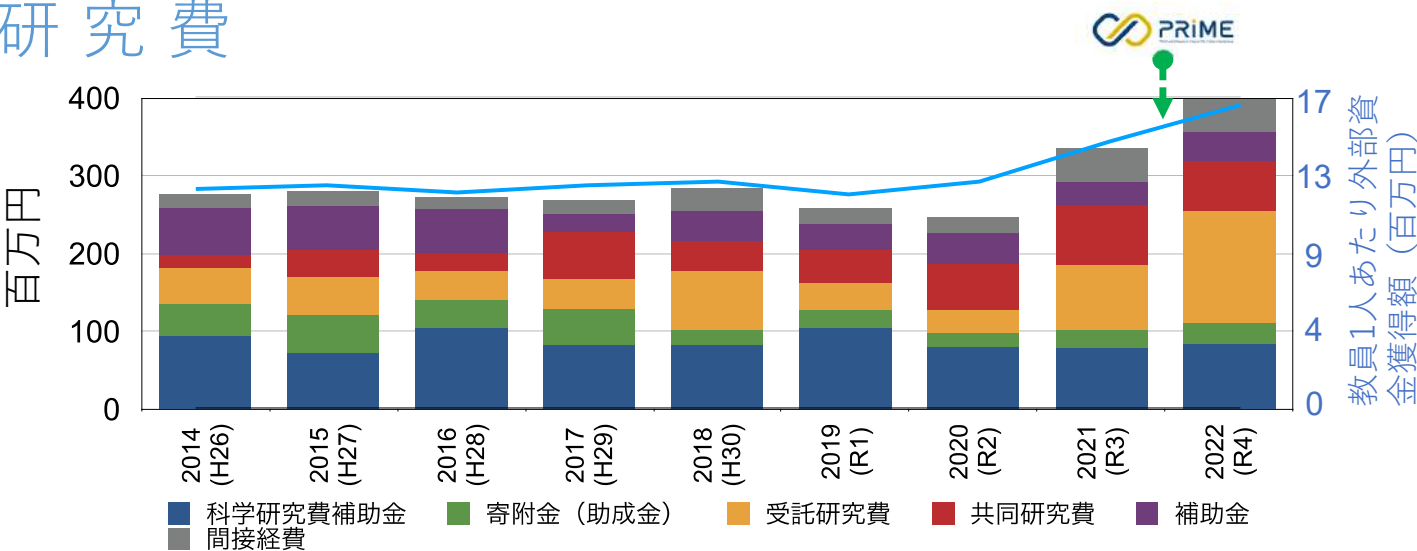
## 論文数



TOP10%学術誌への論文掲載の割合 (10年間)

**40.7%**

## 研究費



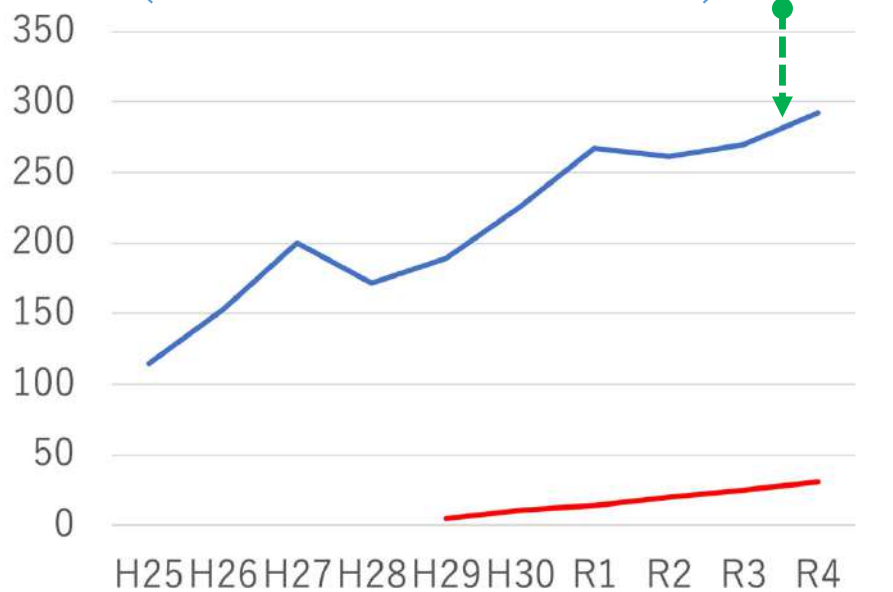
教員1人あたり外部資金獲得 (2022年度)

**16.6**  
百万円

共同研究拠点での取組により増加している

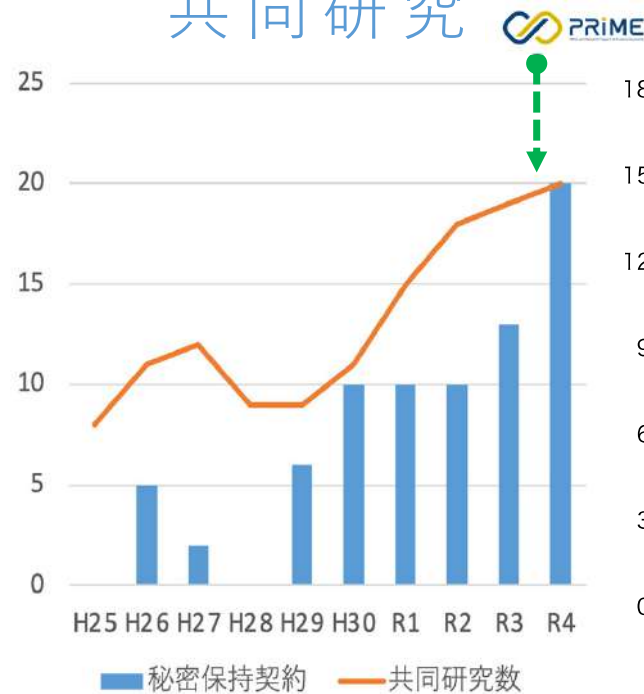
# 共同研究

共同研究数  
(アカデミア)



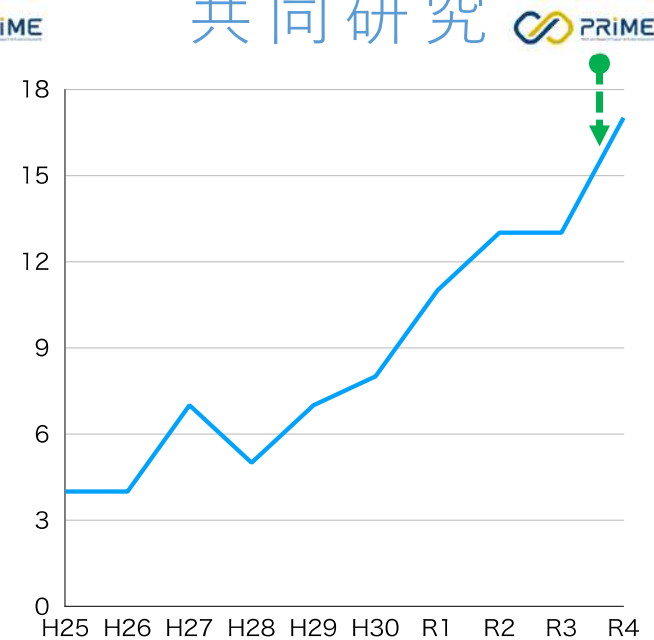
— アカデミア共同研究数  
— 共同利用・共同研究課題の採択件数

民間との  
共同研究



■ 秘密保持契約    — 共同研究数

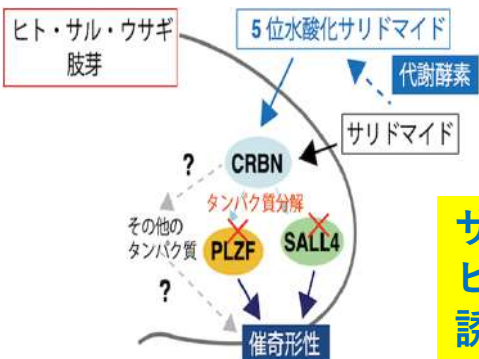
国外との  
共同研究



# 異分野融合の研究成果（セレクト）

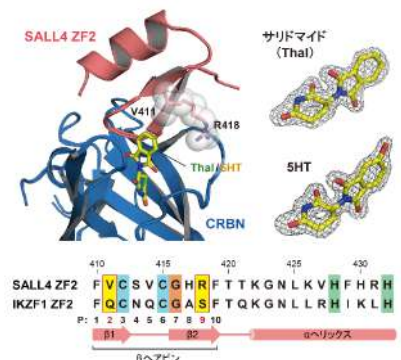
**サリドマイド催奇形機構の解明と世界初複合体内のサリドマイドの高解像度構造解析に成功（ヒトプロテインアレイ）**

Nat Commu 2020  
EMBO J 2021



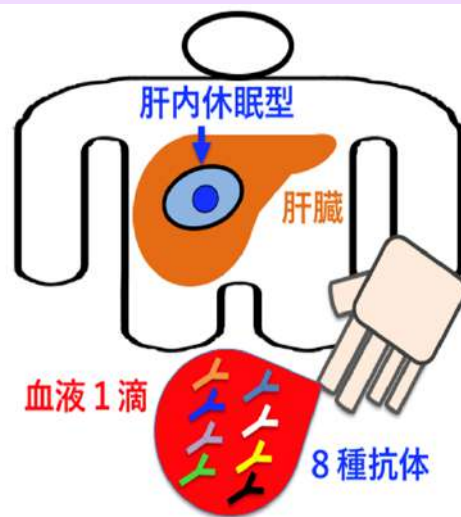
**サリドマイドがヒトで催奇性を誘導するモデル**

**催奇性を誘導するサリドマイドの複合体内の詳細な構造**



**世界初の無症状の肝内休眠型保有者を診断できる技術（マラリア原虫プロテインアレイ）**

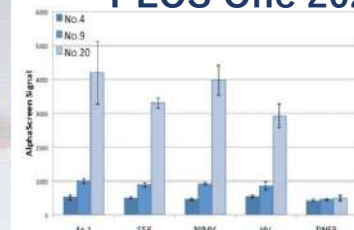
Nat Med 2020



**8種類のマラリア抗体で三日熱マラリア肝内休眠型を診断できる**

**愛媛県内の柑橘ウイルスに対する検査キットの開発（PROS保有抗体構築技術活用）（県内農林施設等と共同）**

PLOS One 2020



愛媛県ブランド 紅まどonna 高感度ウサギモノクローナル抗体を単離



カンキツの葉をチューブ内にすりつぶす



カンキツ葉抽出液をキットに滴下

ウイルス感染を判定



陽性

開発中検査キットの概要



陰性

**農業現場で簡単にウイルス感染の検査可能**



# 社会への波及効果

## プロテイン・アイランド・松山 (PIM)

### 地方自治体との協働事業 (20年以上継続)

【PIM主催者】 愛媛大学 愛媛県 松山市 松山商工会議所  
愛媛経済同友会



【PIM一般向け体験セミナー (毎年開催)】  
2007年から毎年100人程度の中高生を中心とした一般の方を対象に、オリジナルキットで実験を行っている。



愛媛県の主要産業である養殖魚の魚病ワクチン (PROSで作製した真鯛感染ウイルスタンパク質) の技術紹介



愛媛県産の真鯛を使った食育講習

真鯛を三枚におろしてタイカツバーガーを作る

【技術講習会 (毎年開催)】  
2022年に南予地域で開催

# 愛媛大学PROS独自の タンパク質研究技術を基盤にした研究

- サリドマイド催奇性の分子メカニズムの解明
- 次世代治療薬「タンパク質分解誘導剤」の解析技術開発

愛媛大学 プロテオサイエンスセンター  
インタラクティブ解析部門  
JST創発的研究支援事業研究者  
特定助教 山中 聡士

# 略歴

山中 聡士(やまなか さとし) 31歳

## 学歴

2011年3月	愛媛県立大洲高等学校 卒業
2011年4月	愛媛大学工学部応用化学科 入学
2015年3月	愛媛大学工学部応用化学科 卒業(澤崎達也研究室)
2017年4月	愛媛大学大学院 博士前期課程 修了
2020年4月	愛媛大学大学院 博士後期課程 修了 博士(工学)の学位取得 論文名「ケミカルバイオロジーに基づいたユビキチン修飾により制御されるタンパク質分解とシグナル伝達に関する研究」

## 職歴

2017年4月～2020年3月	独立行政法人日本学術振興会 特別研究員(DC1)
2020年4月～2022年3月	愛媛大学プロテオサイエンスセンター 無細胞生命科学部門 特定研究員
2022年4月～現在	愛媛大学プロテオサイエンスセンター インタラクトーム解析部門 特定助教(PI)
2023年4月～	JST創発的研究支援事業研究者(水島パネル)

## 研究分野

タンパク質分解酵素  
低分子化合物依存的な標的タンパク質分解  
細胞内・生体内における低分子化合物依存的な相互作用解析

# サリドマイドの歴史

- サリドマイドは1950年代末に西ドイツで開発され、鎮静・睡眠薬として世界中の40カ国以上で販売された。
- 特に、妊婦のつわりに対して使用されたが、妊娠初期に服用すると胎児の手足、耳などに奇形を引き起こす**催奇性誘発能**が世界中で報告され、1961年に販売停止と回収が行われた。

## サリドマイド薬害 (1957-61年)

## 日本における薬害 (死産含めて約1000例)



<https://www.mhlw.go.jp/stf2/shingi/2/2r9852000000rwbu-att/2r9852000000rwkk.pdf>



1973.12.24 朝日



- 大日本製薬(現:住友ファーマ株式会社)から**睡眠薬「イソミン」**として販売。
- 日本では、**販売停止及び回収が10ヶ月遅れたこと**で被害が増大した。

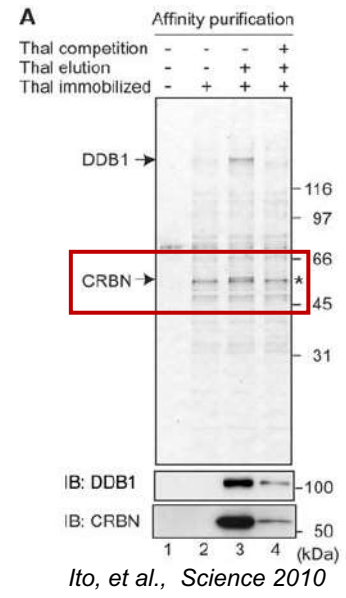
- **ハンセン病や血液がん(多発性骨髄腫)**に対する有効性が示され、**薬害から40年間の時を経て再認可**された。
- 現在では、**米国製薬会社ブリストルマイヤーズスクイブ社**が開発したサリドマイド誘導体である**レナリドミド**を中心に、**血液がんの治療薬**として年間1兆円～2兆円の規模で使用されている。

サリドマイドやその誘導体は代表的な低分子薬剤であるが、

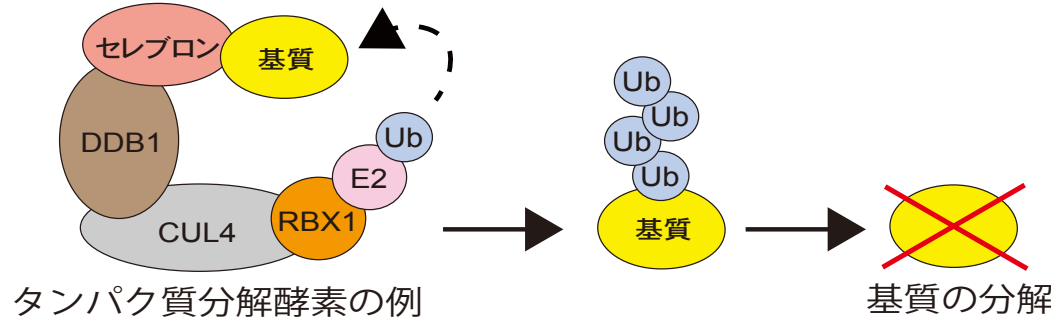
**開発から半世紀以上その作用メカニズムは不明だった。**

# サリドマイドの作用メカニズム

## サリドマイド標的タンパク質 セレブロン(CRBN)の発見



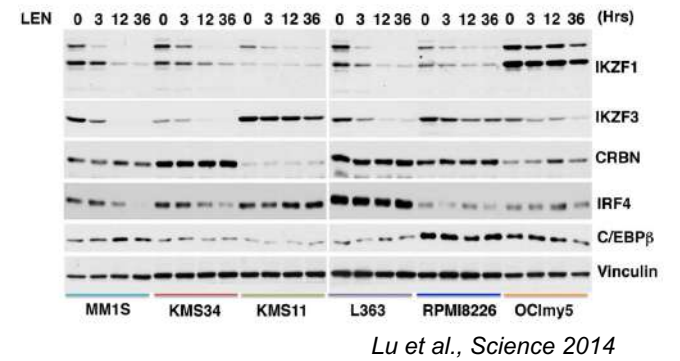
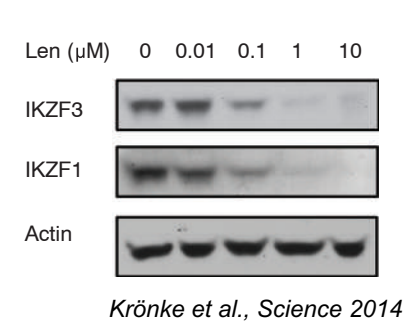
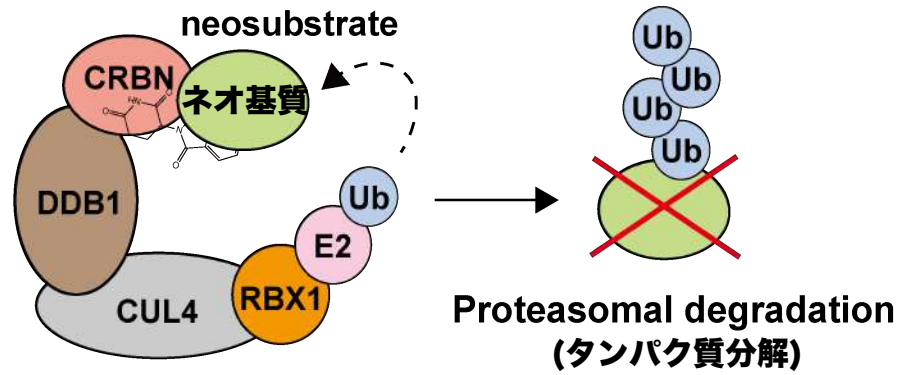
## 細胞内におけるタンパク質分解



タンパク質分解酵素は、適切なタイミングで適切な基質タンパク質を特異的に認識し、分解する。

- ・本システムによって細胞内の80%以上のタンパク質を分解する。
- ・タンパク質分解は厳密に制御されており、本システムの破綻はアルツハイマーやがんなどの様々な疾患の原因となる。

## ネオ基質IKZF1, IKZF3の発見



サリドマイドやその誘導体はタンパク質分解酵素CRL4<sup>CRBN</sup>をハイジャックし、本来基質ではない基質「ネオ基質」を分解誘導する。

# コムギ無細胞系を用いたサリドマイド催奇性標的分子の探索

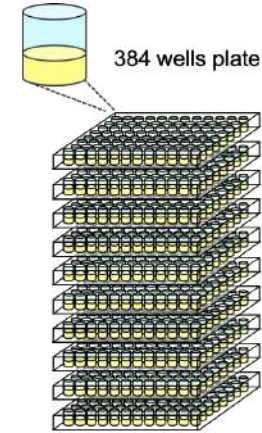
催奇性に関与するネオ基質は未発見であった。(研究開始当時)

コムギ無細胞系を用いたプロテインアレイの構築

催奇性

睡眠鎮静

血管新生阻害



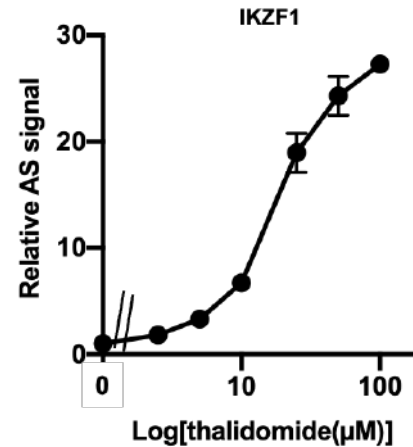
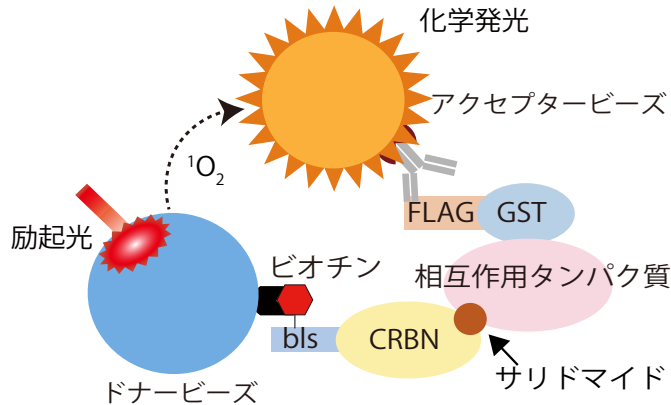
**Protein array**  
**28K-HUPA**

**Focused HUPA**

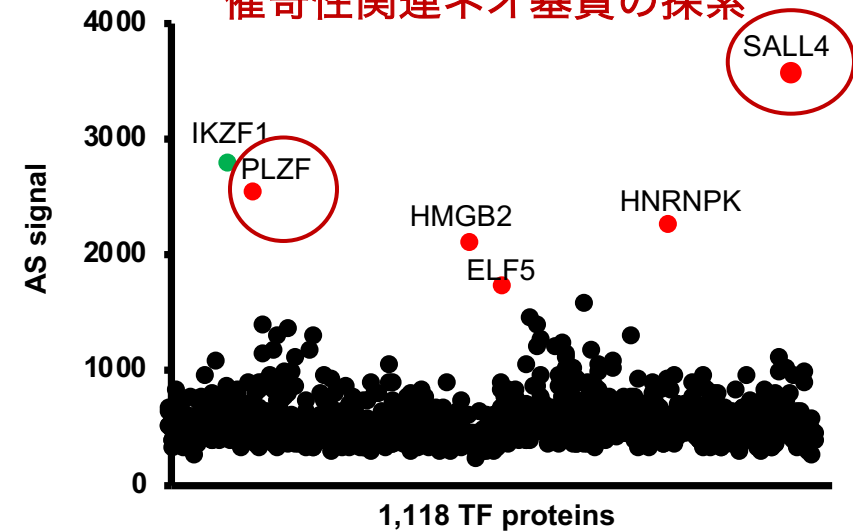
- Membrane, BTB
- Signal transduction: NF- $\kappa$ B, TGF- $\beta$ , ...
- Tissue specific HUPA: T-cell, BC, ...
- Transcription factor

Collaboration with Kazusa DNA Res. Inst.

コムギ無細胞系を用いたサリドマイド-ネオ基質相互作用解析系の構築



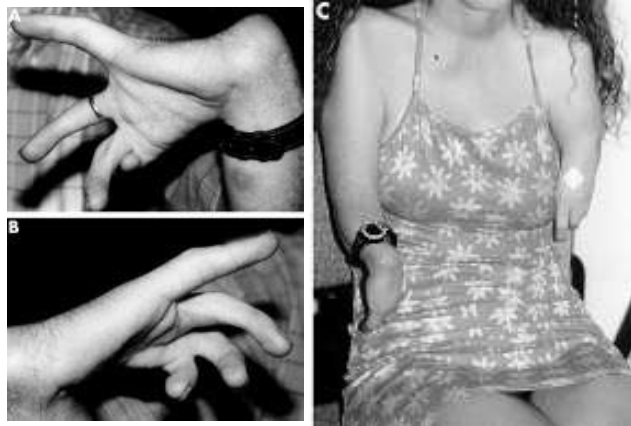
催奇性関連ネオ基質の探索



コムギ無細胞系を基盤にしたスクリーニングの結果、  
ネオ基質候補としてSALL4およびPLZFを見出した。

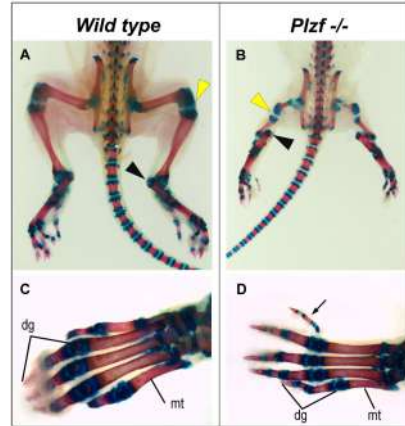
# コムギ無細胞系を用いたサリドマイド催奇性標的分子の探索

## SALL4関連疾患



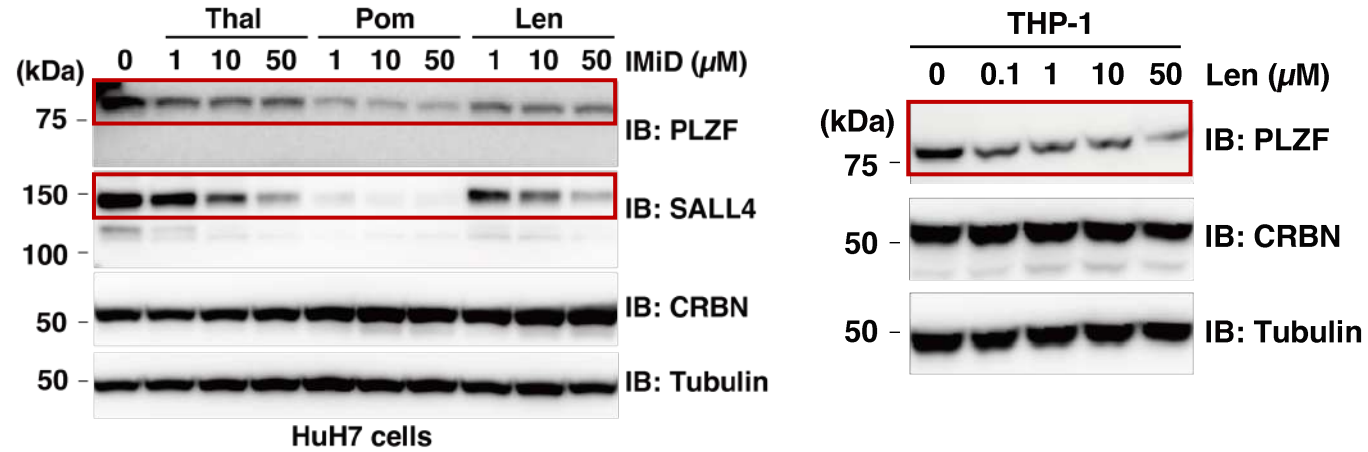
Trummer et al. J Med Genet, 2002

## PLZF変異ラット



Liška, et al., Plos One, 2016

## サリドマイドによるSALL4及びPLZFのタンパク質分解



世界的に競争の激しい研究領域



RESEARCH ARTICLE



SALL4に関しては、ハーバード大学に先を越される。

## Thalidomide promotes degradation of SALL4, a transcription factor implicated in Duane Radial Ray syndrome

Katherine A Donovan<sup>1,2</sup>, Jian An<sup>1,2</sup>, Radosław P Nowak<sup>1,2</sup>, Jingting C Yuan<sup>1</sup>, Emma C Fink<sup>3,4</sup>, Bethany C Berry<sup>1</sup>, Benjamin L Ebert<sup>3,4</sup>, Eric S Fischer<sup>1,2\*</sup>

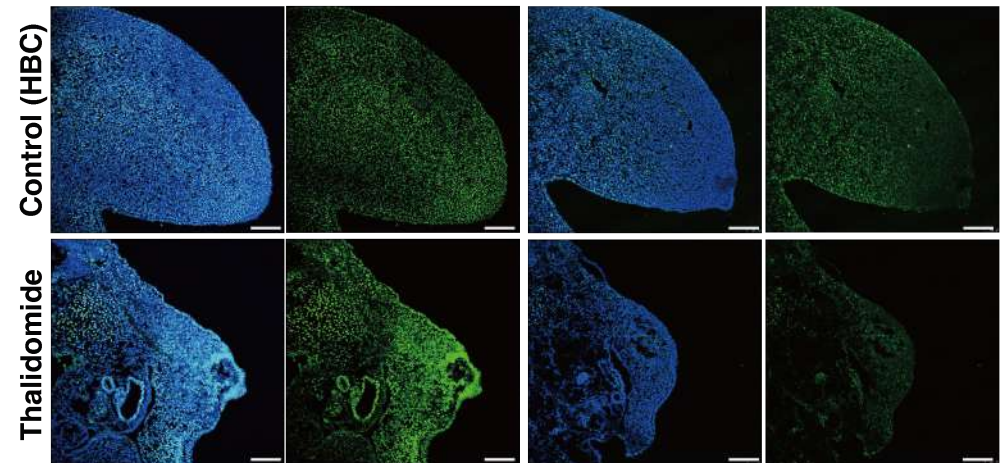
<sup>1</sup>Department of Cancer Biology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, United States; <sup>2</sup>Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School, Boston, United States; <sup>3</sup>Division of Hematology, Brigham and Women's Hospital, Boston, United States; <sup>4</sup>Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, United States

Donovan et al., eLIFE 2018

研究人生の中で最も悔しかった出来事、、、  
PLZFだけは絶対に負けれない！！

## ニワトリ胚四肢におけるPLZFの分解

DAPI + GgSALL4    GgSALL4    DAPI + GgPLZF    GgPLZF



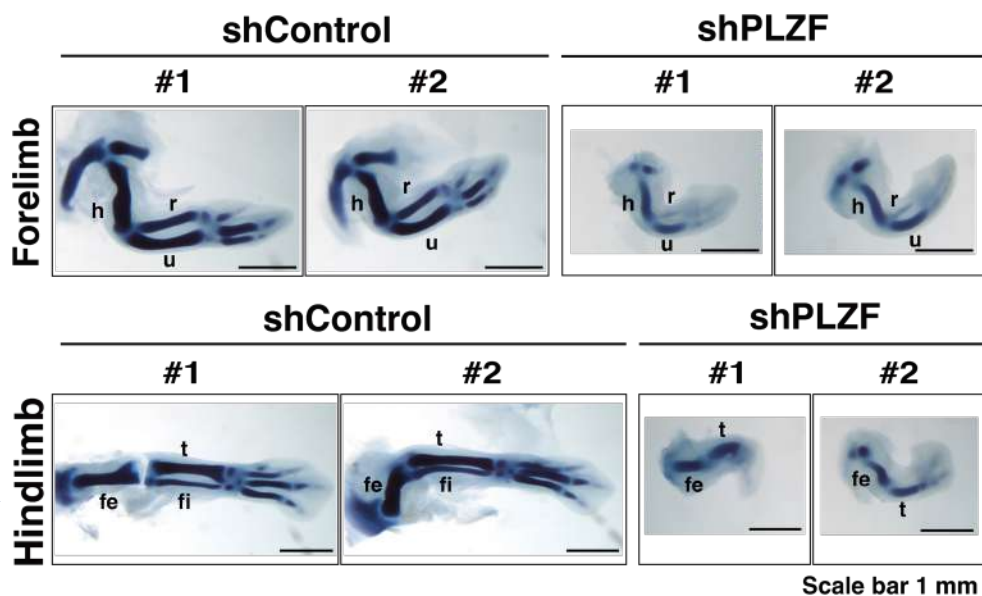
Scale bar 100 μm

見出したSALL4およびPLZFはサリドマイドやその誘導体依存的に分解される。

# ニワトリ胚を用いたサリドマイド催奇性の解析

PLZF発現を減少させた際の催奇性解析

PLZF過剰発現によるレスキュー実験

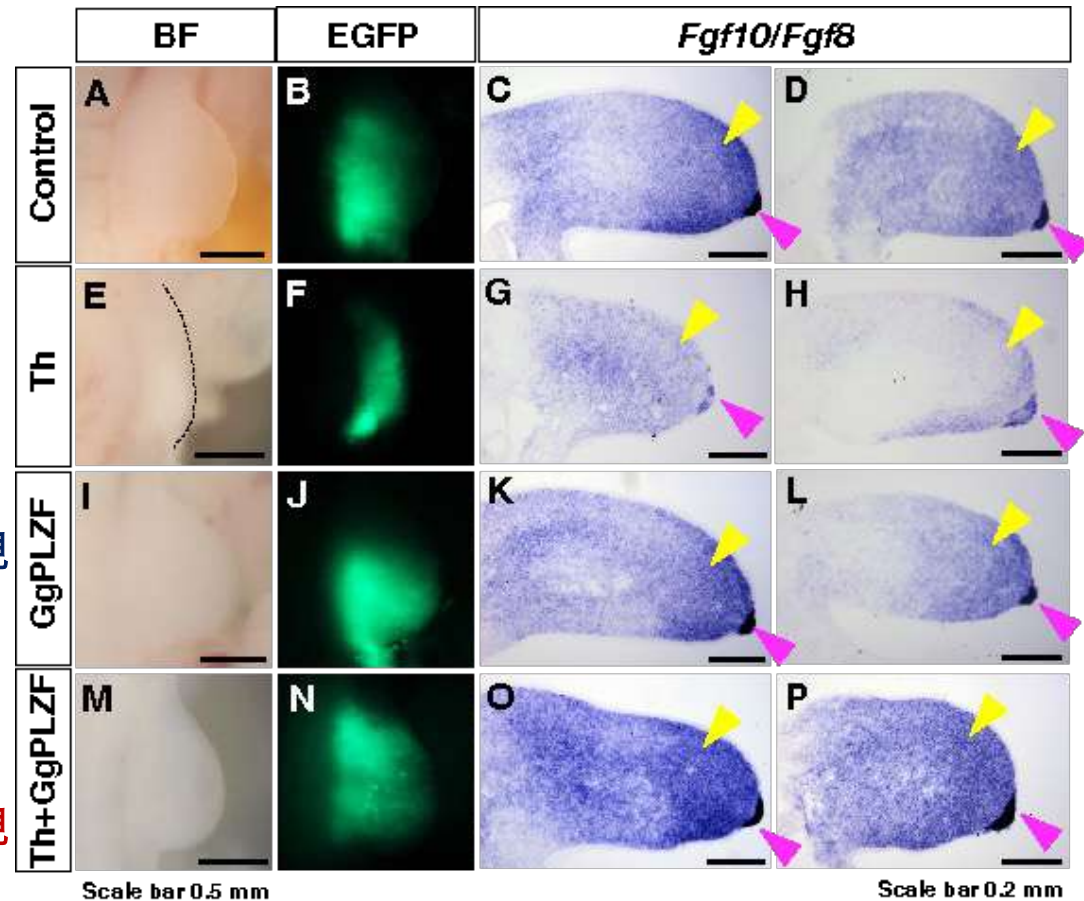


PLZFのタンパク質量が減少することで四肢に重篤な催奇性を示す。

サリドマイド

PLZF過剰発現

サリドマイド  
+  
PLZF過剰発現

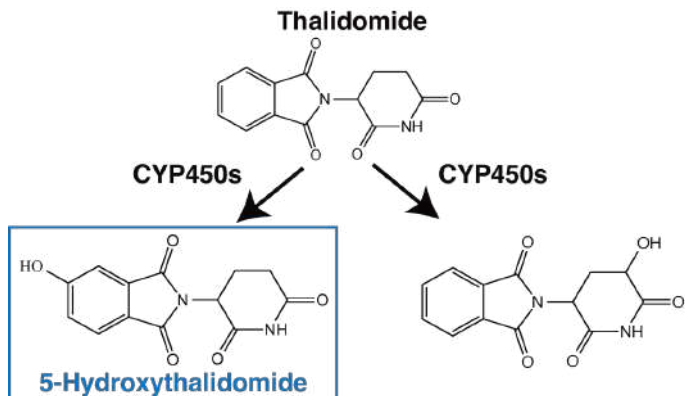


PLZFはサリドマイド催奇性に関するネオ基質である。

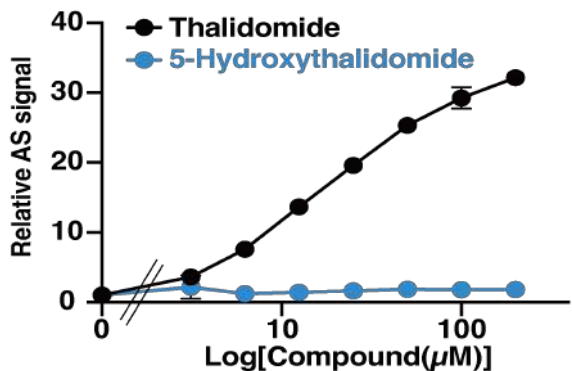


# サリドマイド催奇性におけるサリドマイド代謝産物

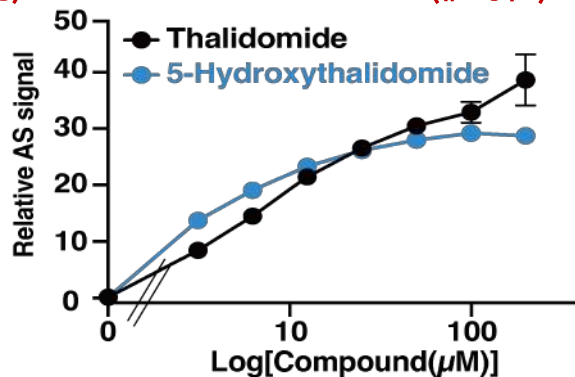
サリドマイド代謝産物のネオ基質選択性



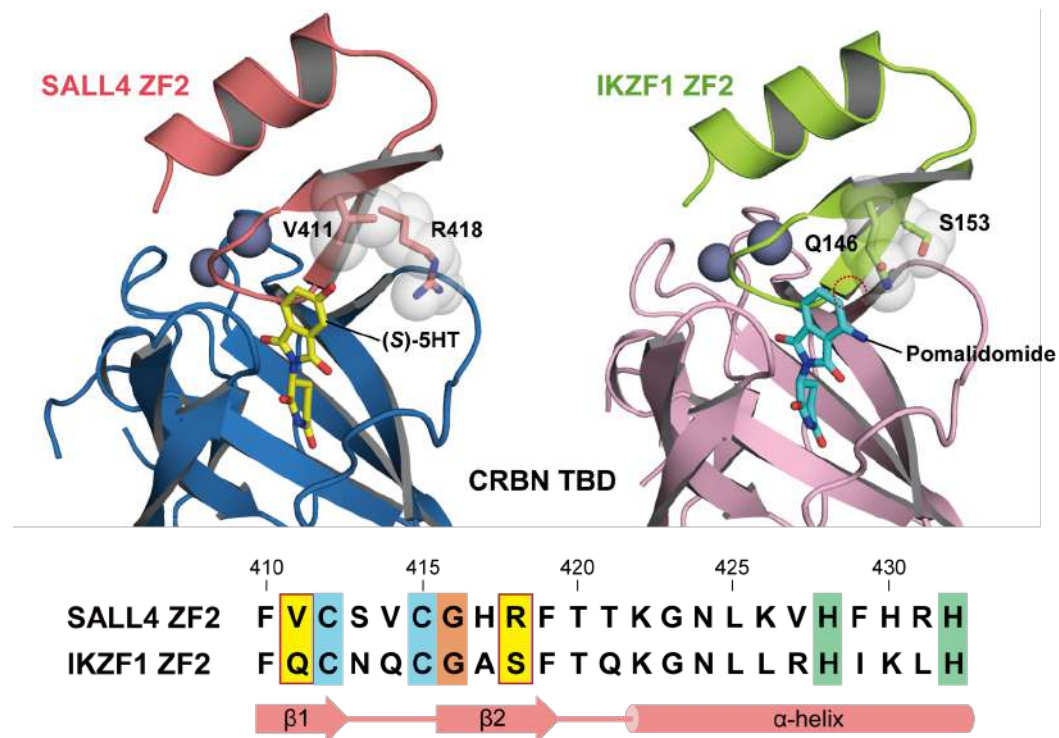
IKZF1 (抗血液がん作用)



SALL4 (催奇性)



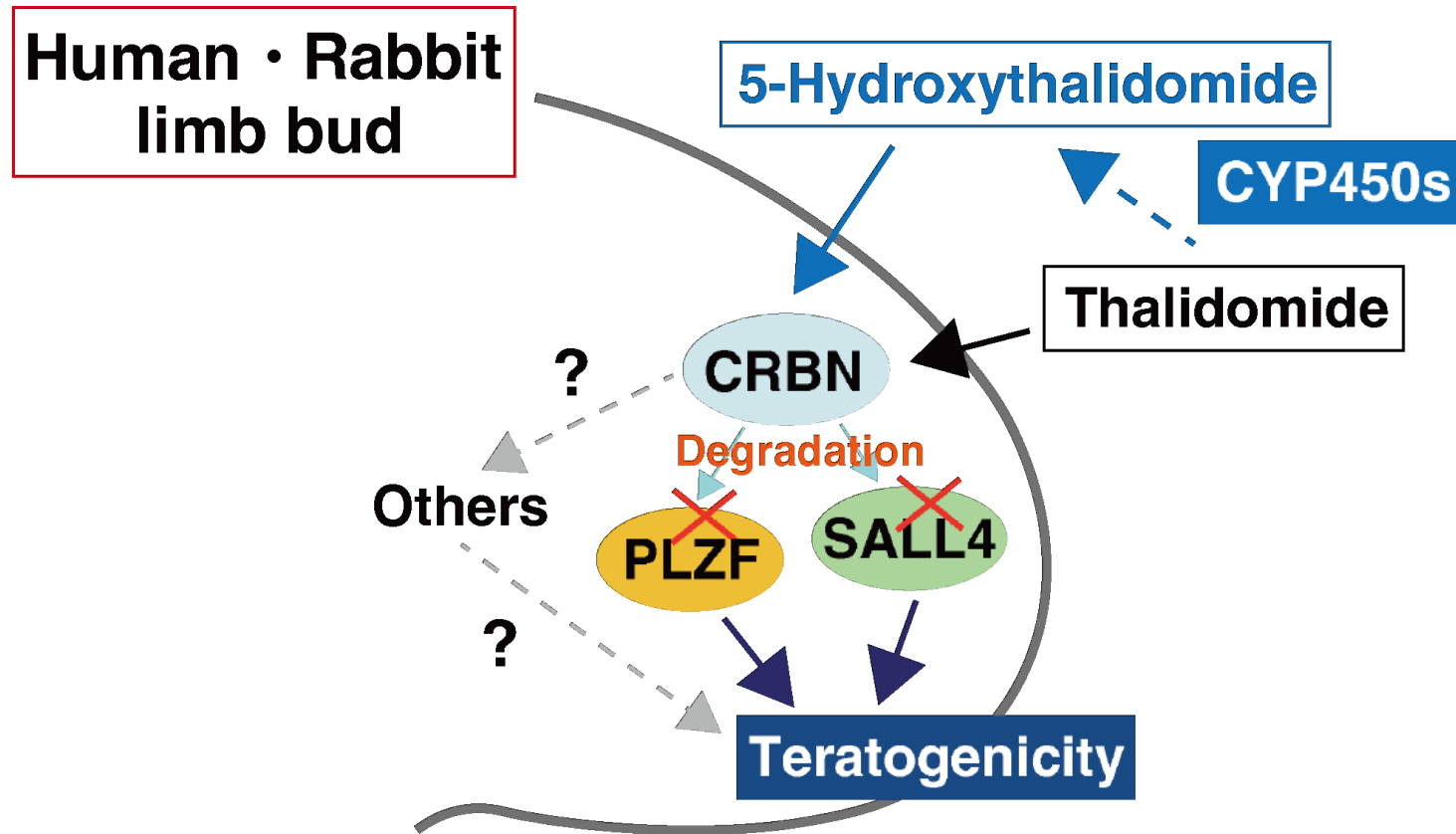
サリドマイド代謝産物のネオ基質選択性における構造基盤の獲得



Furihata, H., Yamanaka, S., et al., Nat. Commun. 2020

サリドマイド代謝産物である5位水酸化サリドマイドは、  
**催奇性関連ネオ基質を選択的かつ強力に分解する。**

# サリドマイド催奇性メカニズムの提唱



*Yamanaka et al., EMBO J 2021*

ヒトなどのサリドマイド感受性動物種において、  
SALL4およびPLZFの二重分解によって強力な催奇性が誘発される。

# タンパク質分解誘導剤(最先端の治療薬)

治療標的タンパク質



がん細胞の増殖 ↑

従来の低分子薬剤



がん細胞の増殖 ↓

従来の低分子薬剤の多くは、タンパク質の酵素活性を阻害する。

酵素活性を持たないタンパク質は治療標的することが困難。

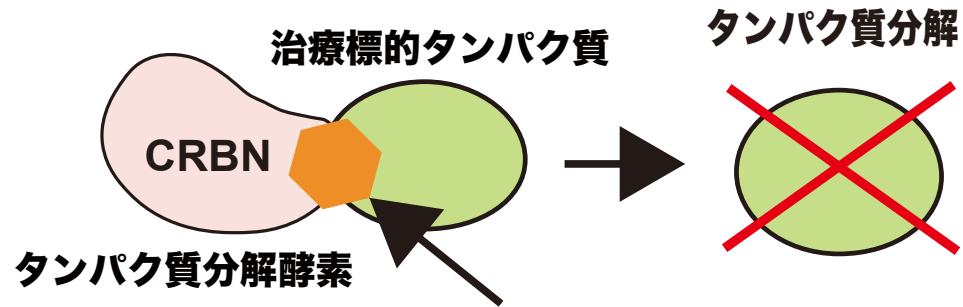
## タンパク質分解誘導剤の特徴

- ・ 触媒的に機能するため、低濃度で効果が絶大である。
- ・ 酵素活性を持たない様な治療標的タンパク質をも標的できる。
- ・ 標的タンパク質の全ての機能を阻害する。

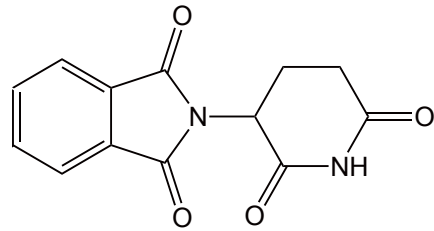
サリドマイドは「タンパク質分解」という、  
強力かつ新たな薬剤の作用メカニズムを切り拓いた。

# キメラ型タンパク質分解誘導剤PROTAC

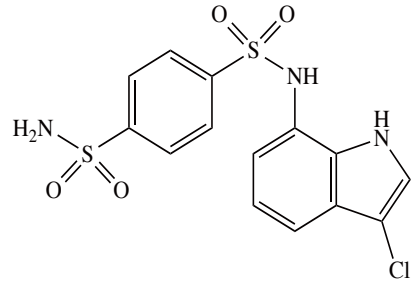
## 分子糊型



分子糊型のタンパク質分解誘導剤  
(サリドマイドなど)

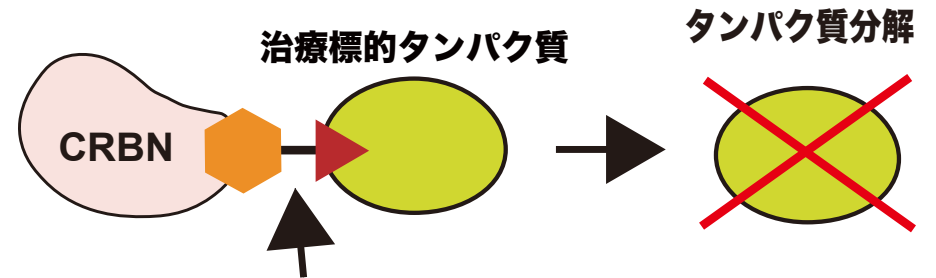


サリドマイド  
転写因子



インディスラム  
RNA結合タンパク質

## PROTAC型 (Proteolysis targeting chimera)



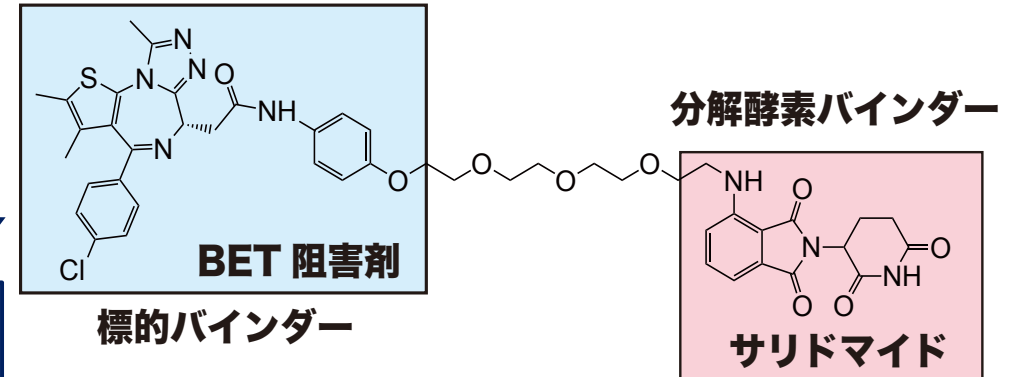
PROTAC型のタンパク質分解誘導剤

ARV-825 (BET タンパク質の PROTACs)

応用



自由自在に  
変更可能



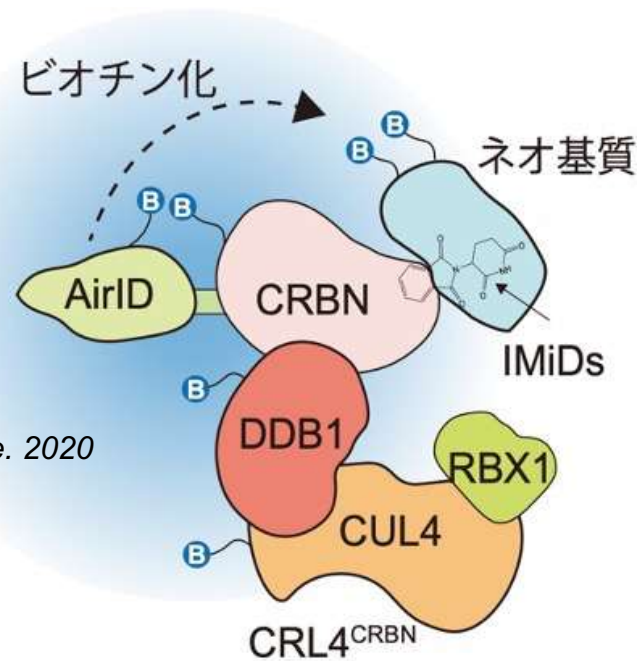
理論上、全てのタンパク質を標的に可能。

タンパク質分解誘導剤は「次世代の創薬」として世界中で研究開発が行われており、いくつかは既に臨床段階である。

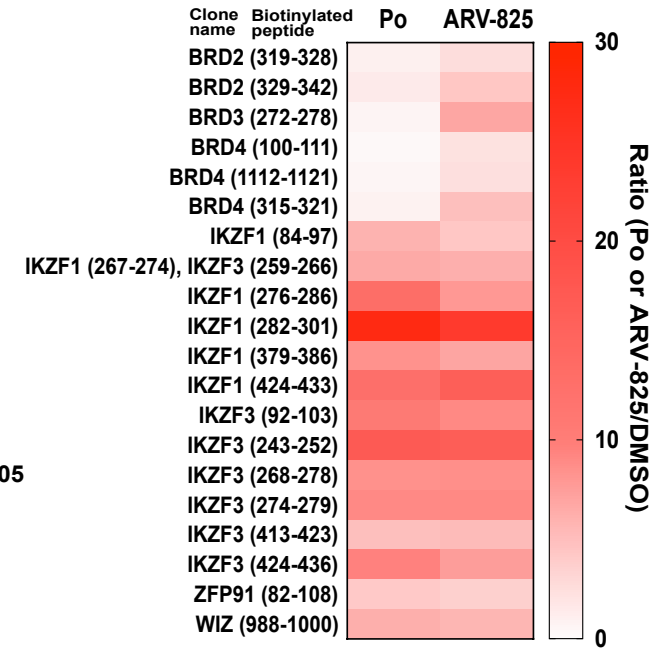
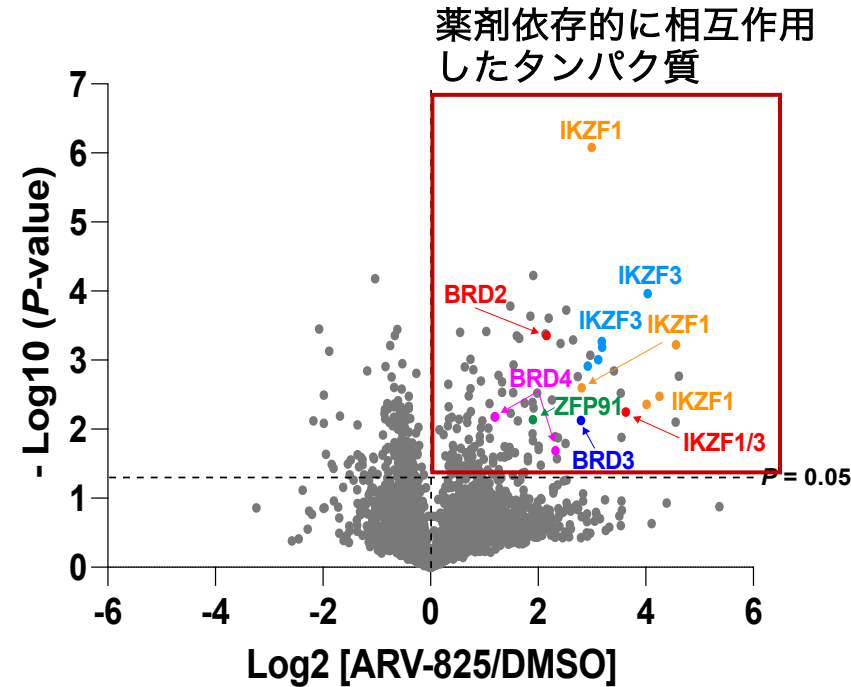
# AirIDを用いた細胞内におけるタンパク質分解誘導剤依存的な相互作用解析

愛媛大学PROSで開発された近位依存性ビオチン化酵素AirIDを用いた解析技術

質量分析を組み合わせた網羅的な相互作用解析



Kido et al., eLife. 2020



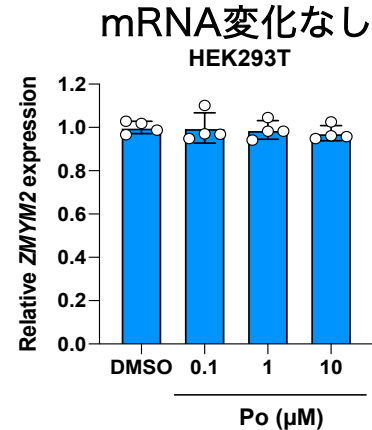
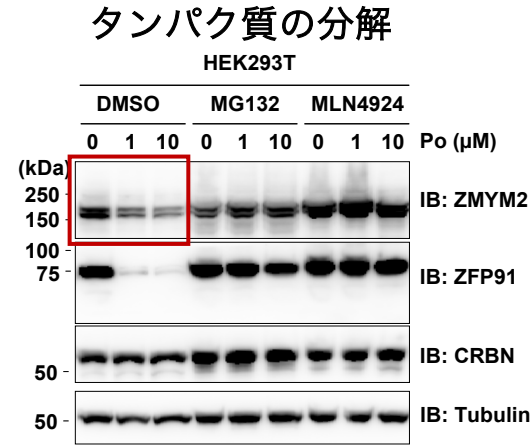
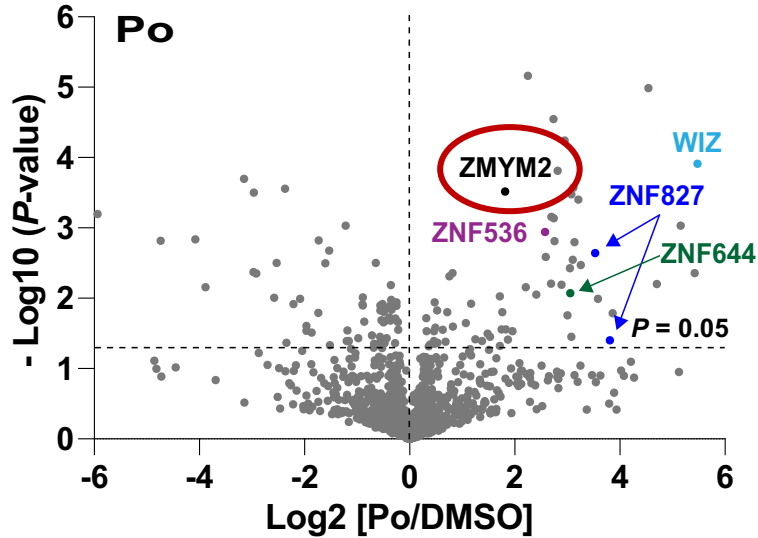
Yamanaka et al., Nat. Commun. 2022

AirIDを用いることで、

細胞内における薬剤(タンパク質分解誘導剤)依存的な相互作用解析技術を構築した。

# AirIDを用いた疾患関連ネオ基質の発見

## 新規ネオ基質ZMYM2の発見



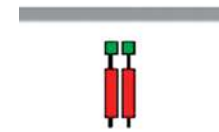
## 血液がん関連ネオ基質ZMYM2-FGFR1の発見

染色体転座に伴い  
血液がんを引き起こす

Gene fusion  
(Type 1)

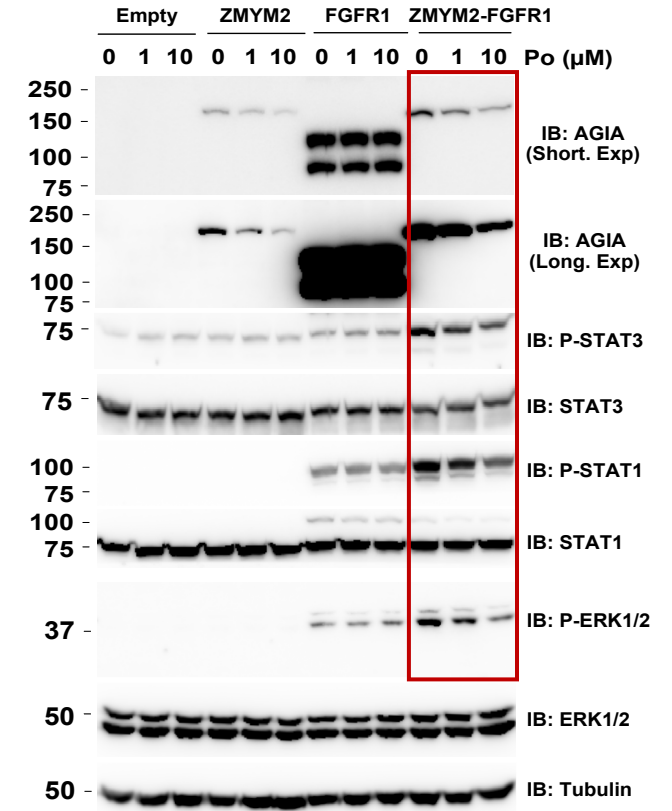
Myeloproliferative  
syndrome

Peripheral T-cell  
lymphoma



- BCR-FGFR1
- CNTRL-FGFR1
- CUX1-FGFR1
- ETV6-FGFR3
- FGFR1OP-FGFR1
- FGFR1OP2-FGFR1
- LRRFIP1-FGFR1
- MYO18A-FGFR1
- RANBP2-FGFR1
- TPR-FGFR1
- TRIM24-FGFR1
- ZMYM2-FGFR1

Katou Masaru., J. Mol. Med 2016



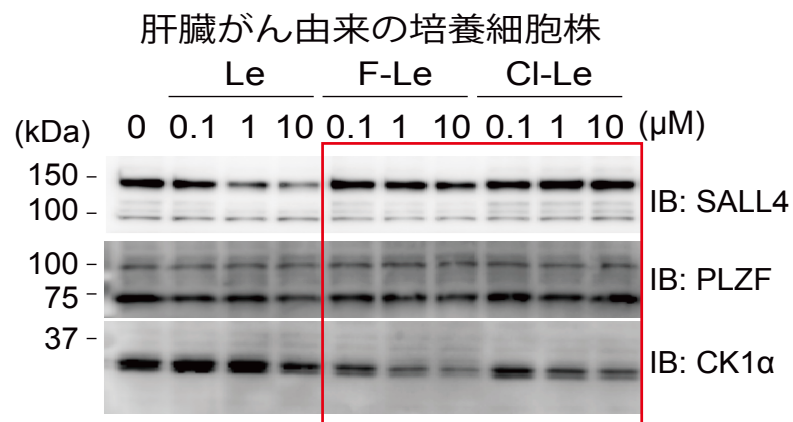
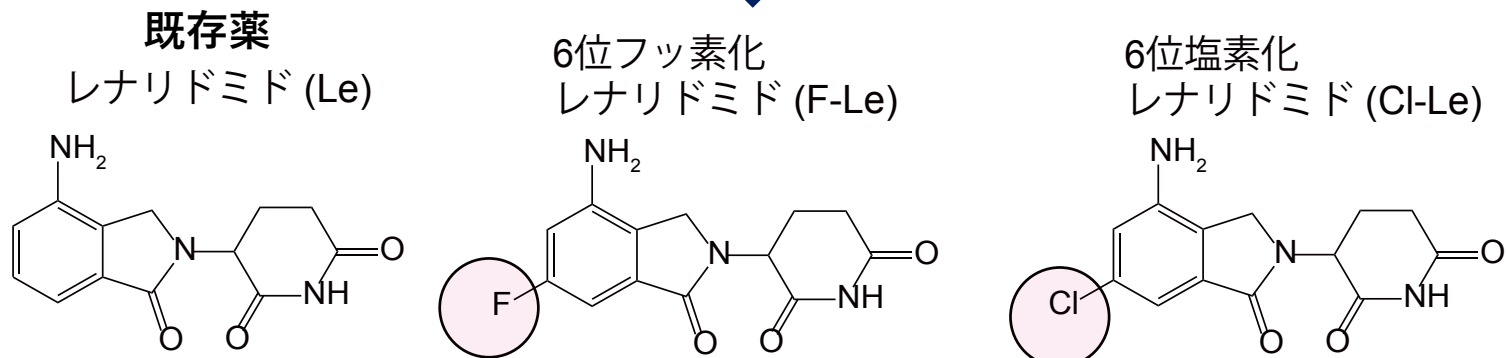
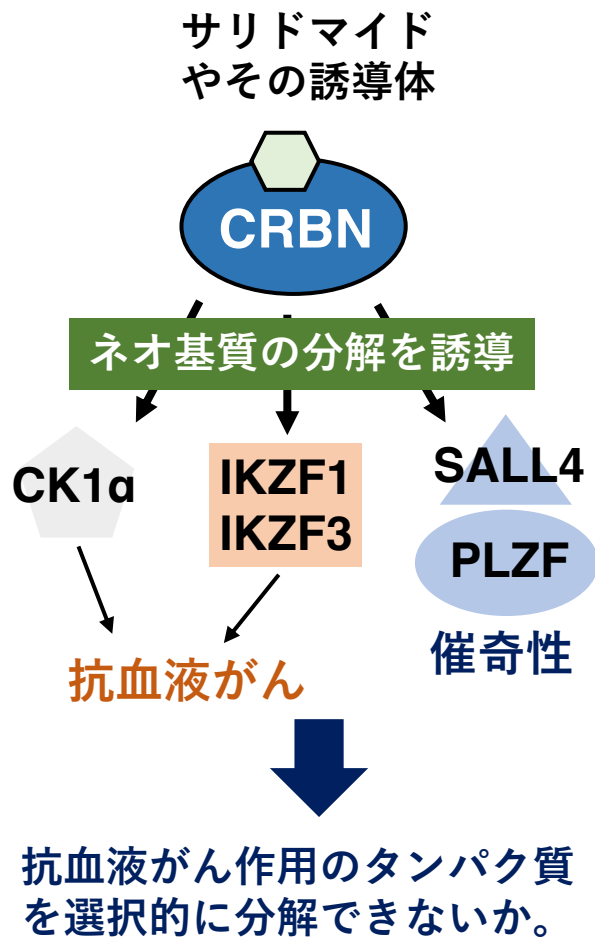
Yamanaka et al., Nat. Commun. 2022

開発した評価系を用いることで、

サリドマイド誘導体の新たな標的を見出した。

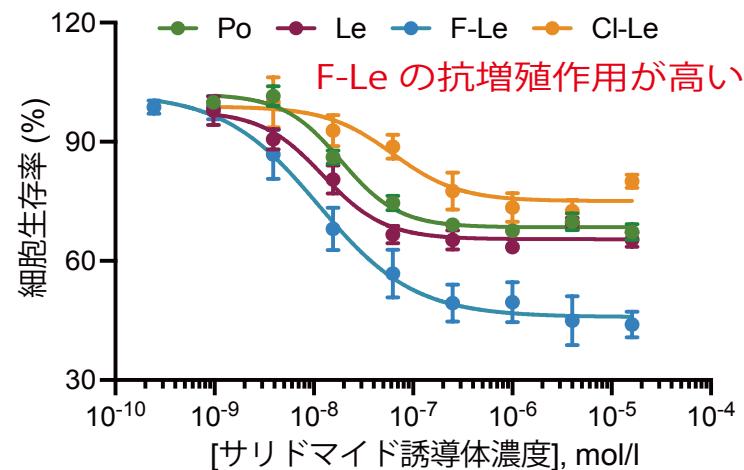
# 催奇性を回避した血液がんにも有効な新規サリドマイド誘導体の開発

約150種類のサリドマイド誘導体を用いたスクリーニングの結果



SALL4・PLZFの分解が弱い

5番染色体欠損骨髓異形成症候群由来の培養細胞株

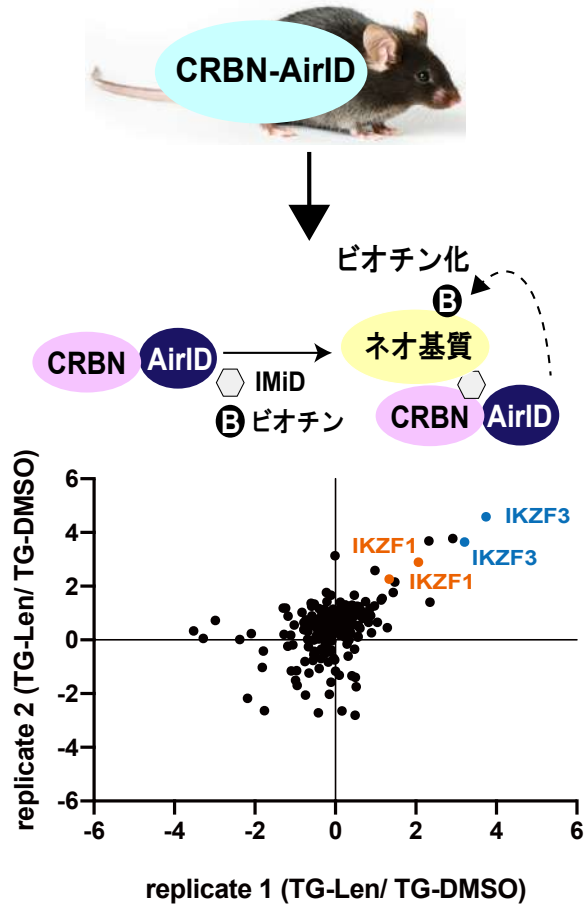


Yamanaka et al., Nat. Commun. 2023

催奇性を軽減し、高い抗血液がん作用を示す新規サリドマイド誘導体を開発した。

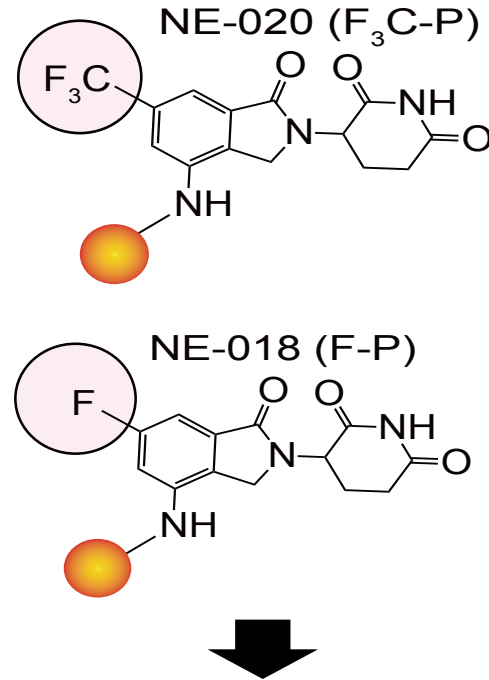
# 現在取り組んでいる研究

生体内におけるタンパク質分解誘導剤依存的な相互作用解析



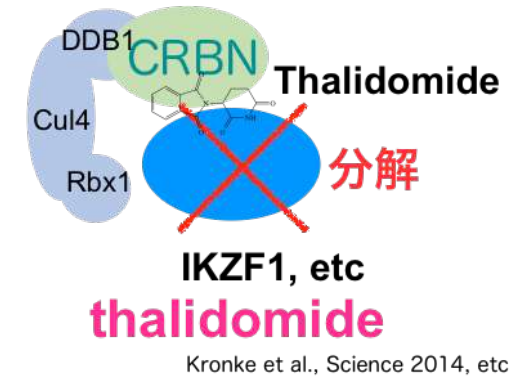
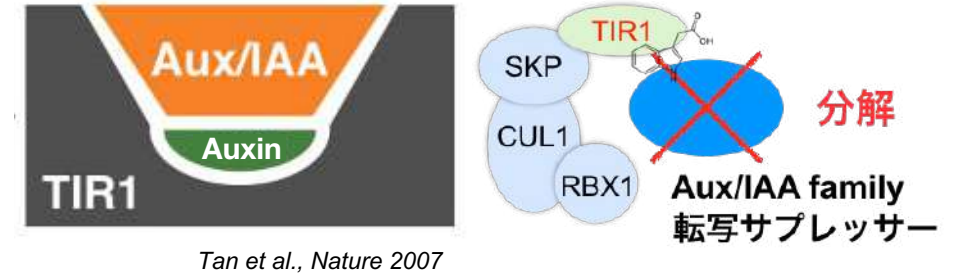
タンパク質分解誘導剤開発のための評価系の構築へ

選択的なタンパク質分解薬の開発



副作用を軽減した様々な疾患に対するタンパク質分解誘導剤の開発へ

動物細胞において未発見である生体内タンパク質分解誘導分子の発見



世界初の動物細胞におけるタンパク質分解誘導分子の発見へ



# 謝辞

## Biochemical and cell-based analyses

### *Ehime University*

Tatsuya Sawasaki    Hiroyuki Takeda  
Hirotaka Takahashi    Takahiro Iwasaki  
Yuki Shoya  
Yuto Horiuchi  
Saya Matsuoka  
Koya Nagaoka  
Kohki Kido

## Synthesis of thalidomide derivatives and PROTAC

### *Nagoya Institute of Technology*

Shibata Norio  
Etsuko Tokunaga  
Mayaka Maeno  
Akihito Taya  
Takato Nagasaka  
Mai Usui

## Analysis of teratogenicity in chicken embryos

### *Tohoku University*

Koji Tamura  
Hidetaka Murai  
Gembu Abe

### *Kyushu University*

Daisuke Saito

### *Nagoya University*

Takayuki Suzuki

## X-ray structural analysis

### *The University of Tokyo*

Hirotake Furihata  
Takuya Miyakawa  
Masaru Tanokura

## LC-MS/MS analyses

### *Tokushima University*

Hidetaka Kosako  
Kohei Nishino

## Mouse Generation and analyses

### *Ehime University*

Yuki Imai  
Yuta Yanagihara

### *RIKEN*

Ichiro Taniuchi  
Satoshi Kojo  
Kazuki Okuyama  
Chizuko Miyamoto

