

自己細胞シートによる軟骨再生治療は、先進医療Bとして実施される臨床研究で、目的は変形性膝関節症の軟骨欠損に対する細胞シート移植の治療効果(痛み、関節機能)がよくなるなど)と安全性(副作用)が出るか、副作用の程度が

重いかなどを調べることにある。具体的には、高位脛骨切り術と合わせて、自己細胞シートの移植を行うことで、変形性膝関節症の軟骨欠損を治療する。年齢や軟骨欠損の程度など、各種の条件はあるが、主に高位脛骨切り術が適応と

関節症で高位脛骨切り術が適応となる患者の軟骨欠損に対する、世界初の細胞シートを用いた再生医療となるものである。

◇自己細胞シートによる軟骨再生治療の流れ

①関節鏡検査(検査入院)と関節組織の採取・最初

ともに変形性膝関節症の患者はさらに増え続けていることが懸念され、根治的治療法の開発が急がれている。

東海大学病院では、修復困難と考えられてきた関節軟骨欠損に対して、温度感応性培養皿で作製した軟骨修復再生効果を得て、2011年には厚生労働省の承認を得て、自己の細胞から作製した軟骨細胞シートを移植する臨床研究を開発した。その結果、安全性および臨床症状の改善と硝子軟骨による修復再生が確認でき、良好な治療効果を得ている。

# 概日時計の周期延長 新たな化合物を発見

体内の概日時計が狂うと睡眠障害やガンなど、様々な疾患につながるため、その仕組みの解明は重要な研究課題となっている。名古屋大学トランスオーム・マテンプ生命分子研究所(ITBM)の廣田特任准教授、伊丹健一郎教授、丹羽由美日本学術振興会特別研究員、大島豪日本学術振興会特別研究員の研究チームは、概日時計の周期を延長させる新たな化合物を発見し、その作用メカニズムの解明に成功した。Science Advancesに24日掲載された。

朝に目覚めて夜に眠るというように、我々の生命活動の多くは1日の周期で繰り返行われている。これらのリズムをつかさどるのが概日時計だ。概日時計は時計遺伝子と時計タンパク質の相互作用によって構成されており、その分子機構の解明はノーベル生理学・医学賞の受賞業績にもなっている。しかし、概日時計がどのようにして1日と25時間周期で、しかも安定して時を刻むことができるのか、その仕組みはいまだに謎に包まれている。

廣田特任准教授らの研究グループは、この問題に取り組みため、ヒト培養細胞を用いて概日時リズムに影響する化合物を大規模に探索するハイスループットスクリーニング法を確立し、化学と生物学とを融合させたケミカルバイオロジーの手法を組み合わせたことで、1日周期の決定に関わる重要な分子機構を明らかにしてきた。しかし、これまでに発見した化合物の中には、作用メカニズムの不明なものも数多くあったため、その作用を解析するために、概日時計の制御機構の理解が深まることを、機能制御への応用が可能になると期待されていた。

今回、廣田特任准教授らの生物学のグループと伊丹教授率いる合成・触媒化学のグループが共同で、概日時リズムの周期を延長させる新しい化合物「GO289」の作用メカニズムを解析した。GO289をブローン化して相互作用するタンパク質を精製し、質量分析することで、GO289の標的タンパク質としてリン酸化酵素のCK2を発見した。GO289は、CK2の酵素活性を非常に強く抑制し、他のリン酸化酵素に対して1000倍以上も強く働いた。CK2は研究が進んでいるリン酸化酵素の一つで、数多くの阻害化合物が報告されているが、これらと比べてGO289の選択性は非常に優れていた。

研究チームは、このCK2選択的な阻害化合物を用い、時計タンパク質のリン酸化状態の変化をリン酸化プロテオミクスの手法によって解析。その結果、PER2タンパク質の688番目のアミノ酸であるセリンをはじめ、全ての時計タンパク質のリン酸化がGO289によって低下することを明らかにした。これらの変化が概日時計の周期延長に大きく関与すると考えられる。

## 「GO289」で時計タンパク質のリン酸化低下 大名大

CK2は、概日時計だけでなく細胞周期や細胞死の制御にも影響することから、研究チームは、GO289がガン細胞の増殖に与える作用について解析した。その結果、培養したヒト腎細胞ガンにおいて、細胞株の種類に応じてGO289が増殖抑制効果を示すこと、時計遺伝子Bmal1が強く誘導される細胞株と増殖抑制効果が強いことを見出した。その上、急性骨髄性白血病(AML)のモデルマウスの脾臓や骨髄の組織培養系において概日時リズムが著しく乱れてくること、GO289がAML細胞の増殖を強力に抑制することを明らかにした。これらの結果は、CK2が概日時計の機能とガン細胞の増殖を結ぶ重要な因子であることを示唆している。

さらにX線結晶構造解析によって、CK2とGO289の相互作用を原子レベルで解明した。その結果、CK2の688番目のアミノ酸であるセリンがGO289との間に水素結合ネットワークを形成しており、これが高い阻害活性に重要であると考えられた。実際、水素結合を拒否部分を改変したGO289を合成して解析したところ、阻害活性が著しく低下することを発見した。一方、GO289と相互作用する他のアミノ酸は、CK2以外のリン酸化酵素では保存されていないことが判明。また、GO289はリン酸領域との間には直接的な相互作用が見られなかった。これらの解析結果から、GO289がCK2のみに存在するアミノ酸と相互作用するという特徴が、その高い選択性に関与していると考えられる。

今回発見したGO289のように、CK2に対して選択性の高い化合物は、有用な研究ツールとして機能解明に役立つと考えられる。今後、GO289をもとに薬剤に向けた開発をすることで、将来的にはシフトワークによる労働者の概日時リズム異常の解消や、概日時計とガンの相互作用についての理解とそれに基づいた治療戦略に応用できる可能性がある。