

## 概日時計に作用する新たな化合物を発見

～褐色脂肪細胞の分化も促進～

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (WPI-ITbM) の廣田 毅 特任准教授、サイモン ミラー 研究員、相川 佳紀 研究員らは、概日時計 (がいじつどけい) 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ました。概日時計は睡眠・覚醒などのさまざまな生理現象に見られる 1 日周期のリズムを支配しており、その機能が乱れると睡眠障害やメタボリックシンドロームなどにも影響を及ぼすことが指摘されています。そのため、概日時計の機能を調節する化合物は、生物が 1 日の時間を測る仕組みの理解だけでなく、関連する疾患の治療に向けた起点にもなります。今回、研究チームは概日時計の周期を延長させる新たな低分子化合物として KL101 と TH301 を見出し、それぞれが CRY1 と CRY2 に選択的に作用する初めての化合物であることを発見しました。X 線結晶構造解析によって作用メカニズムを解明するとともに、一定の構造をとらない CRY1 と CRY2 の部位が作用の選択性に必要であることを機能解析から明らかにしました。更に、慶應義塾大学医学部の羽鳥 恵 特任准教授、孫 ユリ 特任助教と共同で、CRY1 と CRY2 が褐色脂肪細胞の分化に必要であること、また、KL101 と TH301 がその分化を促進することを発見しました。褐色脂肪細胞は熱を産生してエネルギーを消費することから、KL101 や TH301 は肥満の解消に向けた応用も期待されます。

本研究成果は、2020 年 3 月 31 日 (火) (日本時間午前 0 時) に米国科学誌「Nature Chemical Biology」に掲載されました。

本研究は、文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム 名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所 (WPI-ITbM) および国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の革新的先端研究開発支援事業 (PRIME) 「全ライフコースを対象とした個体の機能低下機構の解明」研究開発領域における「霊長類における時間制限摂食の分子機構と老化による変容」(研究開発代表者:羽鳥 恵)の支援のもとで行われたものです。

また、本成果の一部は以下の事業による支援を受けて行われました。

- ・ 科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 さきがけ 「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」研究領域における「構造生物学とケミカルバイオロジーの融合による概日時計研究」(研究者:廣田 毅) および 「生体における動的恒常性維持・変容機構の解明と制御」研究領域における「代謝の時間制御を目指した食事時計の多臓器恒常性維持機構の解明」(研究者:羽鳥 恵)
- ・ 文部科学省 科学研究費助成事業 若手研究 (A)、基盤研究 (B)、挑戦的研究 (萌芽)、基盤研究 (C)、創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業、創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
- ・ 武田科学振興財団 ライフサイエンス研究奨励
- ・ 鈴木謙三記念医科学応用研究財団 調査研究助成
- ・ 上原記念生命科学財団 研究奨励金
- ・ 住友財団 基礎科学研究助成
- ・ アステラス病態代謝研究会 研究助成
- ・ 細胞科学財団 研究助成

## ポイント

- 概日時計の1日リズムを調節する新たな化合物を発見し、KL101 および TH301 と名付けた。
- KL101 と TH301 は時計タンパク質である CRY1 と CRY2 のそれぞれに対して選択的に作用することを見出した。
- X線結晶構造解析などにより、KL101 と TH301 の作用の選択性を決めるユニークなメカニズムを明らかにした。
- KL101 と TH301 による CRY1 と CRY2 の調節が、褐色脂肪細胞<sup>注1)</sup> の分化を促進することを見出した。

## <研究の背景と経緯>

朝目覚めて、夜眠るというように、私たちの生命活動の多くは1日の周期で繰り返します。これらのリズムを司る体内の仕組みを「概日時計」と呼びます。概日時計は、時計遺伝子ならびに時計タンパク質<sup>注2)</sup>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に寄与した3名の研究者に2017年のノーベル生理学・医学賞が授与されました。しかし、概日時計がどのように1日という長い周期で、しかも、安定して時を刻むことができるのか、その仕組みは未だに謎に包まれています。

研究チームはこの問題に取り組むため、ヒトの培養細胞を用いて化合物が概日リズムに与える影響を大規模に解析する手法を確立し、化学と生物学とを融合させたケミカルバイオロジー<sup>注3)</sup>の手法を応用することで、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ました。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が数多くあったため、その作用を解析することによって、概日時計の制御機構の理解が深まるとともに、機能制御への応用が可能になると期待されていました。

## <研究の内容>

今回、研究チームは概日リズムの周期を延長させる新たな化合物 KL101 および TH301 (図1)の作用メカニズムを解析しました。その結果、KL101 は時計タンパク質の CRY1

を、TH301はCRY1の類似タンパク質であるCRY2をそれぞれ選択的に安定化して活性化することを見出しました。研究グループは以前、CRY1とCRY2の両方に作用する化合物KL001を報告しましたが、CRY1とCRY2は非常によく似ているため、それぞれに対して選択性を示す化合物の開発は非常に困難であると考えられてきました。そのため、KL101とTH301の作用の選択性に関する発見は大きな驚きでした。

これらの化合物がどのように働くのかを知るために、研究チームはX線結晶構造解析<sup>注4)</sup>によって、CRY1およびCRY2と化合物の相互作用を原子レベルで解明しました(図2)。その結果、化合物と相互作用する部位はCRY1とCRY2の間でほぼ同じであり、なぜ作用の選択性が生まれるのかを説明することができませんでした。CRY1とCRY2の機能解析を進めた結果、化合物が結合するポケットの外に存在し、一定の構造をとらないCRY1とCRY2の部位が化合物の選択的な作用に必要なことを明らかにしました。これは、作用の選択性を化合物の結合ポケットが決める、という定説とは異なる予想外のメカニズムです。

研究チームは更に、CRY1およびCRY2と代謝疾患の関心に注目して研究を進めました。その結果、CRY1とCRY2の両方を失ったマウスにおいて、褐色脂肪細胞の分化が起こりにくいことを見出しました。そこで、CRY1とCRY2のそれぞれを活性化するKL101とTH301の効果を解析したところ、どちらの化合物も褐色脂肪細胞の分化を促進することを発見しました(図3)。これらの結果は、CRY1とCRY2が概日時計の機能と褐色脂肪細胞の分化を結ぶ重要な因子であることを示しています。

## <今後の展開>

CRY1とCRY2は非常に類似したタンパク質であり、共通した働きを持つと考えられてきましたが、近年、両者の異なる作用が注目を集めています。今回発見したKL101とTH301のように、CRY1とCRY2をそれぞれ選択的に調節する化合物は、有用な研究ツールとして時計タンパク質の機能解明に役立つに違いありません。光や食事が一日中いつでも手に入る現代社会において、概日時計の乱れが深刻化しており、睡眠障害やメタボリックシンドロームなど、さまざまな疾患との関連が報告されています。エネルギーを蓄積することで肥満をみちびく白色脂肪細胞<sup>注1)</sup>に対し、褐色脂肪細胞は熱を産生してエネルギーを消費する働きをもつことから、KL101やTH301を用いて褐色脂肪細胞を増やすことができれば、概日リズムの異常の解消だけでなく、肥満の解消にも応用できる可能性があります。関連する疾患の治療に向けた薬剤の開発までには数多くのプロセスがあり、今後の研究の発展が期待されます。

今回の研究は、ITbMの伊丹 健一郎 教授、フロハンス タマ 教授、佐藤 綾人 特任准教授、南カリフォルニア大学のステューブ ケイ 教授、京都大学の石 真也 准教授、理研の平田 邦生 専任技師、名古屋大学の阿部 一啓 准教授らと共同で行われました。

<参考図>

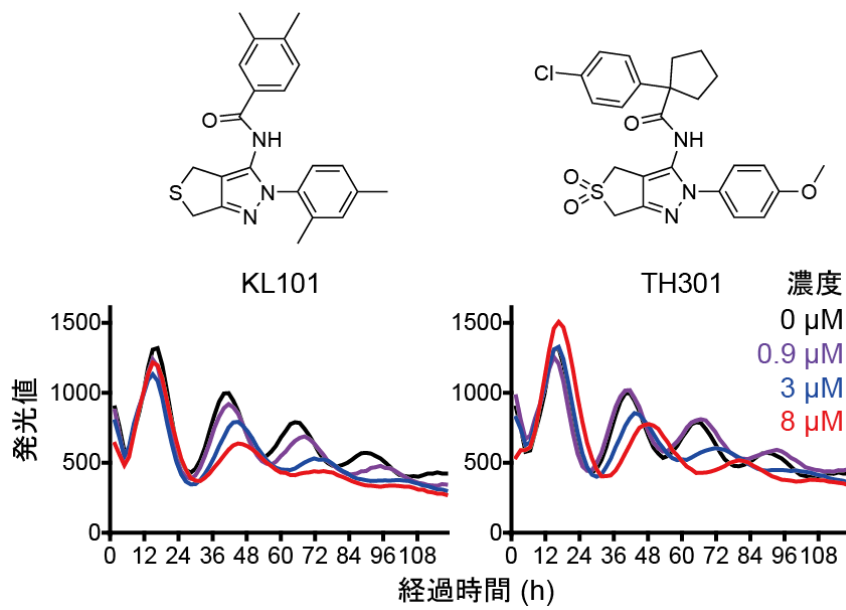


図1 今回発見した化合物 KL101 および TH301 の構造 (上) と概日リズムに対する作用 (下) ヒト培養細胞において、時計遺伝子レポーターの発光量は約1日の周期で増減を繰り返す (黒い曲線)。KL101 および TH301 は濃度に依存して周期を延長する作用を持つ (紫、青、赤の曲線)。

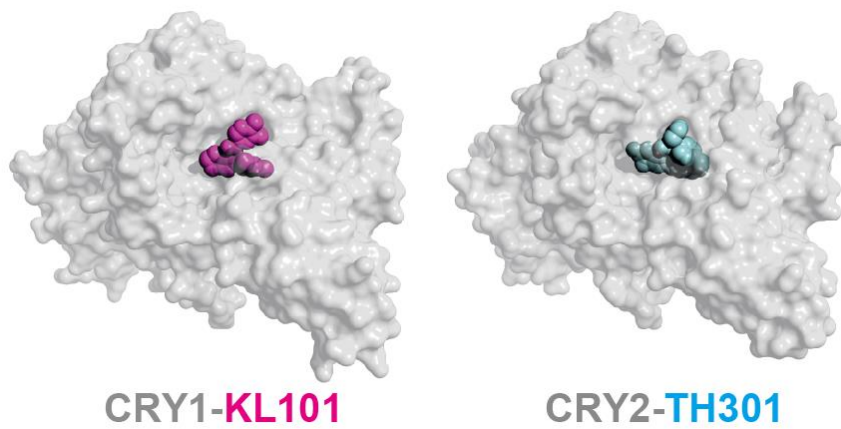


図2 CRY1 と KL101 (左) および CRY2 と TH301 (右) の複合体の立体構造

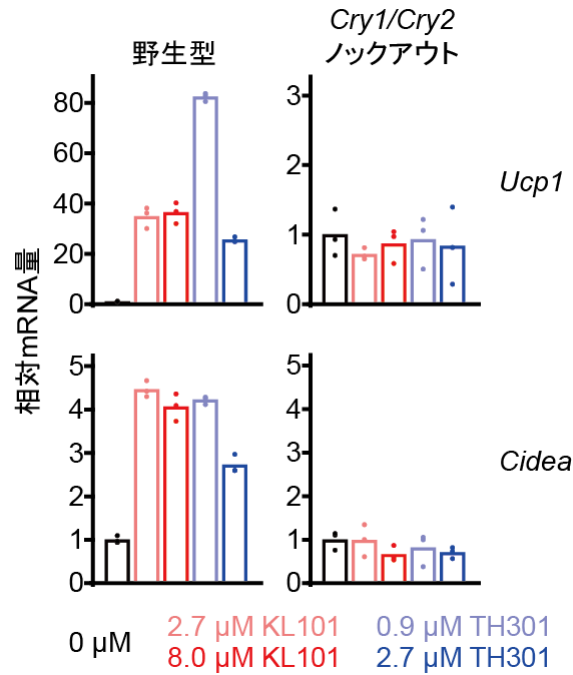


図3 KL101 および TH301 が褐色脂肪細胞の分化に与える影響

褐色脂肪細胞のマーカ遺伝子である *Ucp1* (上) や *Cidea* (下) の発現量は野生型の脂肪細胞 (左) において、KL101 および TH301 によって著しく上昇し、褐色脂肪細胞への分化が促進される。一方、*Cry1* と *Cry2* の両方を失った脂肪細胞 (右) では変化がないことから、KL101 と TH301 の効果は *CRY1* と *CRY2* に依存している。

### <用語解説>

- 注1) 褐色脂肪細胞と白色脂肪細胞：脂肪細胞の種類。褐色脂肪細胞は脂肪酸を分解して熱産生を行うのに対し、白色脂肪細胞は脂肪酸を蓄積し、必要な時に遊離脂肪酸として放出する。
- 注2) 時計遺伝子ならびに時計タンパク質：概日時計が働くために必要な遺伝子とタンパク質。哺乳類においては *PER1*、*PER2*、*CRY1*、*CRY2*、*CLOCK*、*BMAL1* の6種類が知られている。これらの遺伝子やタンパク質の機能制御が概日時計の働きに重要な役割を果たすと考えられている。
- 注3) ケミカルバイオロジー：化学の力を応用して生物学の謎に取り組む手法。本研究では概日リズムに影響を与える新たな化合物を用い、作用機序を解明した。
- 注4) X線結晶構造解析：結晶にX線を照射し、その回折像を見て分子の3次元構造を明らかにする手法。本研究では SPring-8 ならびに高エネルギー加速器研究機構の大型放射光施設を用いて実験を行った。

## <論文情報>

掲載雑誌： Nature Chemical Biology

論文名： Isoform-selective regulation of mammalian cryptochromes

著者： Simon Miller, You Lee Son, Yoshiki Aikawa, Eri Makino, Yoshiko Nagai, Ashutosh Srivastava, Tsuyoshi Oshima, Akiko Sugiyama, Aya Hara, Kazuhiro Abe, Kunio Hirata, Shinya Oishi, Shinya Hagihara, Ayato Sato, Florence Tama, Kenichiro Itami, Steve A. Kay, Megumi Hatori, and Tsuyoshi Hirota

論文公開日： 2020年3月31日（日本時間午前0時）

DOI： 10.1038/s41589-020-0505-1

URL：<https://doi.org/10.1038/s41589-020-0505-1>

※【WPI-ITbM について】 (<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp>)

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) は、2012年に文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI) の1つとして採択されました。名古屋大学の強みであった合成化学、動植物科学、理論科学を融合させ、新たな学問領域である植物ケミカルバイオロジー研究、化学時間生物学 (ケミカルクロノバイオロジー) 研究、化学駆動型ライブイメージング研究の3つのフラッグシップ研究を進めています。ITbMでは、精緻にデザインされた機能をもつ分子 (化合物) を用いて、これまで明らかにされていなかった生命機能の解明を目指すと共に、化学者と生物学者が隣り合わせで研究し、融合研究を行うミックス・ラボという体制をとっています。「ミックス」をキーワードに、化学と生物学の融合領域に新たな研究分野を創出し、トランスフォーマティブ分子の発見と開発を通じて、社会が直面する環境問題、食料問題、医療技術の発展といったさまざまな課題に取り組んでいます。