

嚢胞性線維症原因遺伝子産物CFTRの品質管理機構と機能制御

福田 亮介, 沖米田 司

CFTRの遺伝子変異はCFTRタンパク質のミスフォールディングを引き起こす。異常CFTRは小胞体および形質膜タンパク質品質管理機構により分解される結果、致死性の単一遺伝病である嚢胞性線維症を引き起こす。2012年以降、CFTRを標的とした分子標的薬が根本的治療薬として上市されているが、いまだ十分な治療満足度は得られていない。一方、病態発症に関わるCFTRタンパク質品質管理の分子機構が徐々に明らかになり、その機能制御が嚢胞性線維症の治療法へ応用されつつある。本稿では、CFTRタンパク質品質管理機構と近年上市されたCFTR分子標的薬について紹介する。

1. はじめに

嚢胞性線維症 (cystic fibrosis: CF) は cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) の遺伝子変異に伴う機能喪失を原因とする致死性の劣性遺伝病である。CFは白人種間に高頻度 (約3500人に1人) で発症し、世界での患者数は約8.5万人にもものぼる (米国: 約3万人, 欧州: 約4万人)。日本においては患者数50人未満の希少疾患 (指定難病) であり、白色人種とは遺伝的背景を異にする¹⁾。CF患者は呼吸器, 消化器, 外分泌器官 (膵臓, 精巣, 汗腺など) など全身で進行性の病態を呈する。生後まもなくから腸管内腔水分量の低下や慢性膵炎による膵臓からの消化酵素の分泌量低下による胎便性イレウスが生じる。また, 呼吸器では気道粘液の粘稠度が増加することで気道クリアランスが低下し, 緑膿菌等の細菌感染が持続する。感染による慢性炎症は気道のリモデリング, 線維化を促進し, 次第に呼吸機能が低下することで致死的な呼吸機能不全に至る。抗生物質や膵消化酵素, 去痰薬, 抗炎症薬などの対症療法の実現によりCF患者の寿命は延長されたがいまだに余命の中央値は約40歳であり, 有効な治療法

の確立が求められている。

CFTRは上皮細胞のアピカル形質膜に発現する cyclic adenosine monophosphate (cAMP) 依存性の塩素イオン (Cl^-) チャネルであり, 重炭酸イオン (HCO_3^-) 輸送にも関わっている²⁾。CFTRは二つの6回膜貫通ドメイン (membrane spanning domain 1, 2: MSD1, MSD2) と制御ドメイン [Regulatory (R) ドメイン], そして二つのヌクレオチド結合ドメイン (nucleotide binding domain 1, 2: NBD1, NBD2) から構成される (図1)。CFTRはcAMPによって活性化された protein kinase A (PKA) により, Rドメインがリン酸化される。CFTRのRドメインのリン酸化は adenosine triphosphate (ATP) 介在性のNBD1, NBD2の二量体形成を生じ, ATP加水分解を駆動力とした Cl^- , HCO_3^- の輸送が可能となる³⁾。細胞外への Cl^- 輸送はトランスポーターまたは傍細胞経路を介した Na^+ の輸送を生じ, 浸透圧効果による水分の管腔側への輸送を誘導するため, CFTRのチャネル機能は細胞外水分量の調節に重要である。また, CFTRにより輸送される HCO_3^- は細胞外pHの低下を防ぎ, 粘液粘稠化の抑制や細菌感染防御に寄与すると考えられている^{4,5)}。

CFTRの変異は現在までに2000種類以上同定されているが, CF患者で最も多い変異はNBD1に存在する508番目のフェニルアラニンが欠失した ΔF508 変異である。約90%のCF患者が一つの ΔF508 アレルを有し, 約50%のCF患者が ΔF508 ホモ接合体である (Annual Data Report 2017 Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2017-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf>)。CFTRの変異はその特性によってClass I~VIIに分類される⁶⁾ (図2)。Class I変異は未成熟終止コドンが生じることで全長のCFTRタンパク質が合成されず, 機能的なCFTRタンパク質発現が損なわれる。Class II変異は小胞体におけるタンパク質フォール

関西学院大学理工学部生命医化学科 (〒669-1337 兵庫県三田市学園2-1)

CFTR protein quality control mechanism and its modulation for therapeutic approaches

Ryosuke Fukuda and Tsukasa Okiyoneda (Department of Biomedical Chemistry, School of Science and Technology, Kansai Gakuin University, 2-1 Gakuen, Sanda 669-1337, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920179

© 2020 公益社団法人日本生化学会

ディングが正常に行われず、ミスフォールドタンパク質として小胞体品質管理機構 (endoplasmic reticulum quality control: ERQC) に認識され、プロテアソーム分解される。そのため、プロセッシング (成熟化) とトラフィッキング

グ (細胞内輸送) に異常を生じ、形質膜発現が失われる。Class IIIおよびIV変異はCFTRタンパク質の成熟化および形質膜発現には影響を与えないが、イオンチャネル機能を喪失もしくは低下してしまう。Class V変異は転写やスプライシング異常によってCFTRの発現量の変化を生じる。Class VI変異はCFTRタンパク質の形質膜への移行、およびチャネル活性には影響を与えないが、形質膜上での不安定化を引き起こす結果、形質膜発現を低下させる。Class VII変異は転写異常によってCFTR mRNAが産生されない変異型である。先述した $\Delta F508$ 変異はフォールディング異常を示すClass II変異であると考えられていたが、近年、Class IIIおよびVI変異としての性質も有することが明らかにされている^{7,8)}。

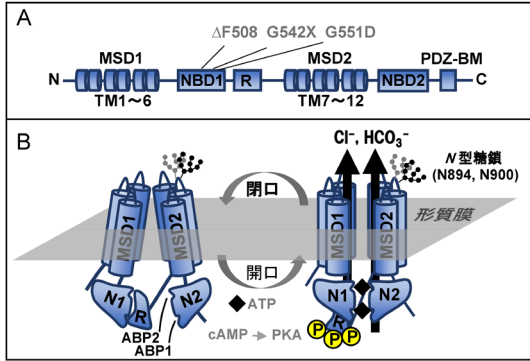


図1 CFTRの構造と機能
CFTRはそれぞれ六つのTM (transmembrane) ドメインからなるMSD1 (TM1~6) とMSD2 (TM7~12), NBD1, NBD2, Rドメインから構成される。TM1~2, 3~4, 5~6, 7~8, 9~10, 11~12間はextracellular loop (ECL1~6) があり、ECL4には二つの糖鎖修飾部位が存在する。TM2~3, 4~5, 8~9, 10~11間はintracellular loop (ICL1-4) があり、NBD1/2と相互作用する。C末端にはPDZ結合モチーフ (PDZ-BM) が存在し、NHERF1-Ezrin複合体との結合を介した膜局在化や膜上安定化に寄与する。CF患者で多いCFTR変異 ($\Delta F508$, G551D) はNBD1に存在する。CFTRは形質膜上においてcAMP依存的にPKAによって主にRドメインがリン酸化される。Rドメインのリン酸化はNBD1-NBD2のATP介在性二量体形成を可能にする。ATP binding pocket 1 (ABP1) はATPとの親和性が高い一方、加水分解能が欠失しているため二量体安定化に関与すると考えられ、ABP2におけるATP加水分解が実質的なチャネルのNBDエンジンコアとして機能している³⁾。NBD二量体化によりMSDの陰イオン選択的ポアが開くと、MSD間の電氣的勾配を利用してCl⁻, HCO₃⁻の細胞外への輸送が行われる。ABP2においてATPが加水分解されると二量体は解離し、ポアが閉じることで再度閉口状態となる。

2. CFTRの生合成経路

CFTRは小胞体膜上で翻訳され、正しい立体構造へとフォールディングする。CFTRフォールディング機構は、各ドメインが翻訳と同時に準安定状態までフォールディングする第一段階 (co-translational domain-wise folding) と翻訳後に各ドメインが相互作用し、CFTR全体として天然状態にフォールディングする第二段階 (post-translational coupled-domain folding and assembly) の少なくとも二段階で起こると考えられている⁹⁻¹²⁾。CFTRは小胞体でN型糖鎖修飾を受け、小胞体膜貫通型レクチン様シャペロンであるcalnexinと相互作用する^{13,14)}。また、CFTRは細胞質分子シャペロンであるheat shock protein 70 (HSP70), HSP90およびその補助因子であるコシャペロン (HDJ2, p23, FKBP8) とも相互作用し、そのフォールディングが補助される¹⁵⁻¹⁷⁾ (図3)。

CFで最も多い $\Delta F508$ 変異はNBD1に存在する508番目のフェニルアラニン (F508) が欠失する変異であり、

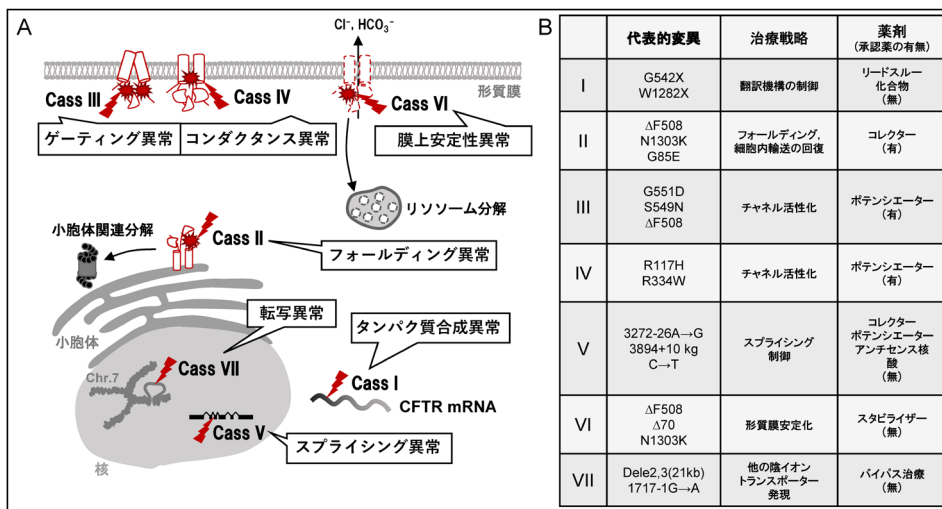


図2 CFTR変異の分類
(A)CFTR変異各クラスの細胞内での分布と性質。(B)CFTR変異各クラスの代表的な変異と治療戦略、および承認薬の有無。(文献6より一部改変)

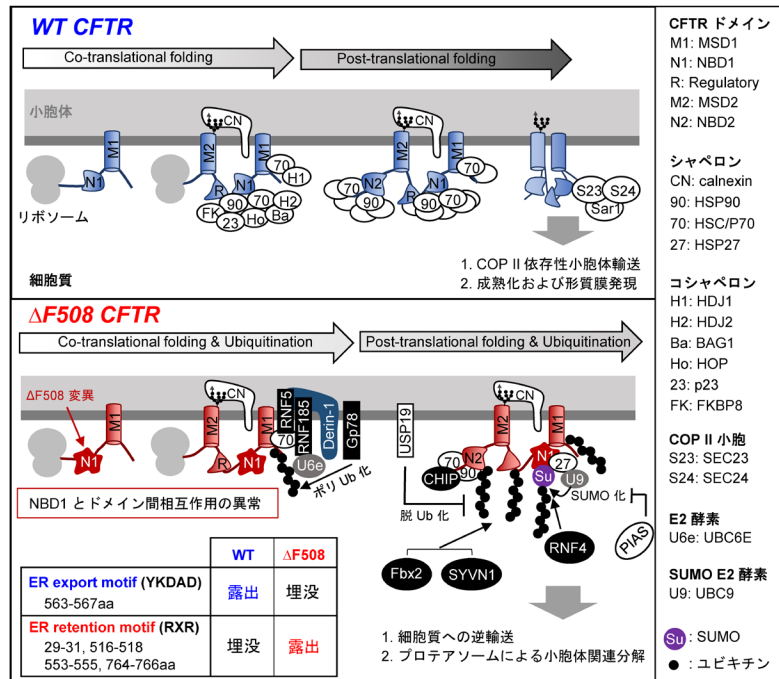


図3 CFTR 生合成と小胞体品質管理機構

(上) WT CFTR は粗面小胞体のリボソームで翻訳され、MSD は小胞体膜に貫入される。CFTR は翻訳と同時に各ドメインが細胞質側、小胞体内側のシャペロン-コシャペロンの補助により折りたたみが起こり、準安定構造をとる (co-translational folding)。翻訳終了後さらにシャペロン-コシャペロンの補助により各ドメインどうしが相互作用し、正常な立体構造をとる (post-translational folding)。WT CFTR の NBD1 では ER export motif が露出しており、SEC23、SEC24 を介した COP II 小胞輸送を介して CFTR が小胞体からゴルジ体へと輸送される。ゴルジ体で成熟化し、形質膜に移行する。(下) ΔF508 変異は NBD1 構造不安定化とドメイン間相互作用の不安定化を引き起こし、ミスフォールディングする。ΔF508 CFTR は複数のユビキチンリガーゼにより、co-translational および post-translational にユビキチン化を受ける。ΔF508 CFTR では ER export motif が内部に埋没し、ER retention motif が露出することで小胞体に滞留する。ユビキチン化修飾を受けた ΔF508 CFTR は Derlin-1-VCP を介した細胞質への逆輸送を経てプロテアソームで小胞体関連分解により除去される。

NBD1 の構造安定性を低下させる¹⁸⁾。また、F508 は NBD1 の表面に位置し、NBD1 と MSD1 および MSD2 の細胞内ループとの境界に位置するため、ΔF508 変異は NBD1 と MSD1/2 のドメイン間相互作用も不安定化すると考えられている^{11, 19)}。実際に、NBD1 構造安定性を改善する点変異 (solubilizing mutation) は ΔF508 CFTR フォールディングを部分的にしか改善できないが、NBD1 と MSD1/2 のドメイン間相互作用を安定化する R1070W 変異を併用することで、ΔF508 CFTR フォールディングがほぼ完全に改善される^{19, 20)}。したがって、ΔF508 変異による CFTR フォールディング異常を改善するためには、NBD1 構造不安定性と NBD1 と MSD1/2 のドメイン間相互作用の両方を同時に改善する必要があると考えられる⁹⁾。

翻訳速度も CFTR フォールディング効率に影響を与える²¹⁾。リボソームタンパク質 ribosomal protein L12 (RPL12) ノックダウンは CFTR 変異体の翻訳速度を低下させる結果、ΔF508 CFTR フォールディングが部分的に改善することが報告されている²²⁾。実際に、低濃度の cycloheximide や emetine により新生ポリペプチド伸長を減速させると、ΔF508 CFTR のフォールディングの改善が観察されている²²⁾。

3. CFTR タンパク質品質管理機構

1) 小胞体品質管理機構

小胞体において、ミスフォールドした ΔF508 CFTR は小胞体品質管理機構により、小胞体に滞留 (ER retention) される (図3)。CFTR の小胞体からの小胞輸送には coat protein complex (COP) II 小胞コートタンパク質 SEC23/SEC24 複合体により認識される di-acidic ER export motif が関与し、ΔF508 CFTR ではフォールディング異常によりこの小胞輸送シグナルが露出しなため、小胞体に滞留される可能性が考えられている²³⁾。また、ΔF508 CFTR の小胞体滞留には RXR-based ER retention/retrieval motifs が関与し、フォールディング異常によりこの小胞体滞留シグナルが露出されると考えられている^{24, 25)}。小胞体に滞留された ΔF508 CFTR は細胞質の heat shock cognate 70 (HSC70) や HSP70、小胞体の calnexin といった分子シャペロンとの相互作用が持続する^{14, 26-29)}。小胞体に滞留された ΔF508 CFTR は最終的にユビキチン化を受け、Derlin-1 複合体を介して細胞質へ逆行輸送された後、プロテアソームで分解される³⁰⁻³²⁾。

小胞体における ΔF508 CFTR のユビキチン化には多く

のユビキチンリガーゼが関与する。CFTRのユビキチン化は、翻訳と同時に起こる co-translational ubiquitination と翻訳後に起こる post-translational ubiquitination が考えられている^{30, 33}。ring finger protein 5 (RNF5/RMA1) は小胞体膜上に存在するRING型ユビキチンリガーゼであり、MSD1などのCFTRの膜貫通領域を主に認識すると考えられており、co-translational ubiquitinationへの関与が示唆されている³⁴。RNF185はRNF5ホモログであり、小胞体膜上に存在するRING型ユビキチンリガーゼである。RNF5と同様にDerlin-1, ubiquitin conjugating enzyme 6E (UBC6E) と相互作用し、 $\Delta F508$ CFTRのco-translational ubiquitinationへの関与が示唆されている³⁵。RNF5とRNF185の機能は一部重複する一方、異なる機能も示唆されているが、機能的な違いは不明である。Gp78 (AMFR) は小胞体膜上に存在するRING型ユビキチンリガーゼであり、 $\Delta F508$ CFTRの小胞体関連分解に関与するGp78はE4様活性があり、RNF5によるCFTRのユビキチン化を伸長すると考えられている³⁶。carboxy terminus of Hsp70-interacting protein (CHIP) は細胞質に存在するシャペロン結合性ユビキチンリガーゼであり、 $\Delta F508$ CFTRの細胞質領域、特に、NBD2が合成された後の翻訳後ユビキチン化 (post-translational ubiquitination) に関与すると考えられている^{29, 34}。これら以外のユビキチンリガーゼであるSkp1-Cullin1-Fbx2-Roc1 ubiquitin ligase complex (SCF^{Fbx2}) やsynoviolin 1 (SYVN1) の関与も報告されているが、ミスフォールドした $\Delta F508$ CFTRを選択的に認識し、ユビキチン化する証拠が不足しており、CFTR小胞体品質管理に関与するか否かは不明である^{37, 38}。小胞体におけるCFTRのユビキチン化は可逆的であり、小胞体膜tail-anchored脱ユビキチン化酵素 (deubiquitinating enzyme : DUB) であるubiquitin specific peptidase

19 (USP19) は $\Delta F508$ CFTRのユビキチン化レベルを減少させることで、小胞体関連分解を抑制すると考えられている³⁹。

CFTRはユビキチン化だけではなく、ユビキチン様タンパク質であるSUMOによる修飾 (SUMO化) も受ける。small heat shock protein (sHsp) であるHSP27は $\Delta F508$ CFTRを選択的に認識し、SUMO E2酵素UBC9と協調して $\Delta F508$ CFTRをSUMO化する。SUMO化されたCFTRはSUMO-targeted Ub E3 ligaseであるRNF4によりユビキチン化され、プロテアソーム分解を受ける⁴⁰。また、HSP27-UBC9複合体は構造異常を持つ $\Delta F508$ -NBD1のK447を選択的にSUMO化し、特にSUMO-2修飾が顕著である⁴¹。SUMO E3であるprotein inhibitor of activated STAT4 (PIAS) はCFTRのSUMO-1修飾を促進し、SUMO-2/3修飾を阻害する結果、CFTRのユビキチン化を阻害し、その分解を抑制する⁴²。

2) 形質膜タンパク質品質管理機構

$\Delta F508$ CFTRの大部分は小胞体関連分解で除去されるが、一部の $\Delta F508$ CFTRは形質膜に移行する。実際に、CF患者の気道上皮細胞および腸管上皮細胞において、 $\Delta F508$ CFTRのわずかな形質膜発現が観察されている⁴³。 $\Delta F508$ CFTRのフォールディングは温度感受性であり、低温培養 (26~30°C) により $\Delta F508$ CFTRの形質膜発現は促進される⁴⁴。また、CF治療薬の主成分であるCFTRコレクターも $\Delta F508$ CFTRの形質膜発現を促進する⁴⁵。形質膜に出現した $\Delta F508$ CFTRはイオンチャネルとして機能できるが、構造異常タンパク質としてユビキチン化され、速やかに分解される⁴⁶⁻⁴⁸ (図4)。また、C末端が欠損した $\Delta 70$ CFTRなどのClass VI変異体は、成熟化および形質膜への移行は正

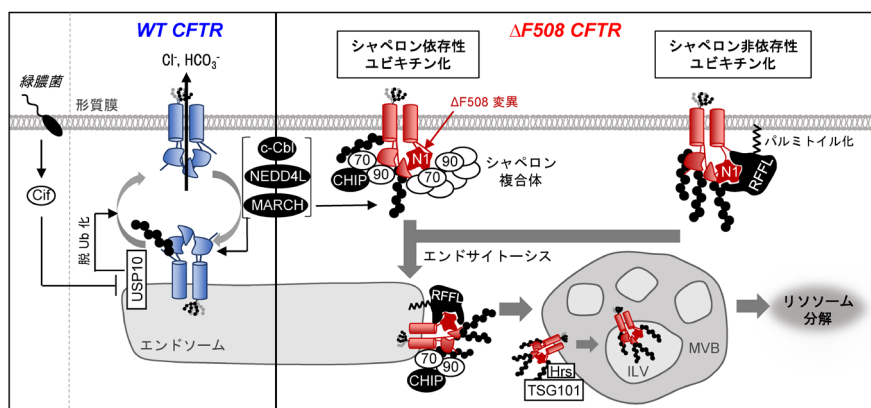


図4 CFTRの形質膜品質管理機構

(左)WT CFTRは形質膜上で安定的にチャネル機能を発揮する。ユビキチン化によりエンドサイトーシスされたWT CFTRはUSP10による脱ユビキチン化を受け、形質膜上へリサイクリングされる。緑膿菌から産生されるCifはUSP10を阻害し、WT CFTRのユビキチン化レベルを増加させる。その結果、WT CFTRのリソソーム分解が促進され、形質膜におけるCFTR発現および機能が低下する。(右) $\Delta F508$ CFTRはその構造異常のため、形質膜から速やかに除去される。構造異常を持つ細胞質領域がシャペロン複合体により認識され、シャペロン結合型ユビキチンリガーゼCHIPがユビキチン化する。また、RFFLは $\Delta F508$ CFTRの構造異常を直接的に認識し、ユビキチン化する。ユビキチン化された $\Delta F508$ CFTRは速やかにエンドサイトーシスされ、Hrs, TSG101等のESCRTタンパク質によってMVB (multi-vesicular body) のILV (intraluminal vesicle) に陥入され、リソソーム分解される。

常に起こるが、形質膜でユビキチン化を受け、速やかに分解される⁴⁶⁾。ユビキチン化はCFTRのエンドサイトーシスを促進し、リサイクリングを阻害する。ユビキチン化されたCFTRはエンドソームでHrs, TSG101を含むendosomal sorting complex required for transport complex (ESCRT) 複合体に認識された結果、リソソーム分解される^{46, 49)}。形質膜からのCFTR変異体の分解にはプロテアソームも関与するが、これらの異なる分解経路の仕分け機構はいまだ不明である^{50, 51)}。

形質膜における $\Delta F508$ CFTRのユビキチン化は、シャペロン依存性ユビキチンリガーゼCHIPが関与する。形質膜の $\Delta F508$ CFTRは部分的に変性しており、その構造異常はHSC70, HSP90とコシャペロンであるDnaJ heat shock protein family member A1 (DNAJA1), HSP70-HSP90 organizing protein (HOP) や activator of HSP90 ATPase protein 1 (AHA1) などに認識される⁴⁹⁾。これらのシャペロン複合体は形質膜の $\Delta F508$ CFTRの構造安定性およびチャネル機能の維持に重要である⁵²⁾。しかしながら、構造異常を持つ形質膜の $\Delta F508$ CFTRは小胞体品質管理機構と同様に、分子シャペロンとの結合が持続し、最終的にCHIPがHSC70, HSP90と結合することで、 $\Delta F508$ CFTRのユビキチン化が起こると考えられる^{49, 53)}。形質膜 $\Delta F508$ CFTRのユビキチン化にはシャペロン非依存性ユビキチンリガーゼRING finger and FYVE like domain containing E3 ubiquitin protein ligase (RFFL) も関与することが近年明らかとなった⁵⁴⁾。RFFLはN末端領域にPI(3)P, PI(5)Pと結合するFYVE-like domain, C末端領域にユビキチンリガーゼ活性に重要なRING domainを有し、それ以外の領域に天然変性領域(disordered region)を多く含む^{54, 55)}。RFFLは膜貫通領域を持たないが、N末端領域がパルミトイル化され、形質膜およびエンドソーム膜の細胞質側に局在する^{56, 57)}。RFFLはN末端領域の天然変性領域を介して、 $\Delta F508$ CFTRの細胞質領域NBD1を直接認識する。興味深いことに、RFFLによる認識はNBD1の構造依存的であり、部分的に変性したNBD1を選択的に認識して、ユビキチン化する。RFFLノックダウンは小胞体に局在する $\Delta F508$ CFTR未成熟型のユビキチン化および小胞体関連分解にはほとんど影響しないが、形質膜やエンドソームに局在する成熟型 $\Delta F508$ CFTRのユビキチン化、特に、リソソーム分解に深く関与するK63連結型ポリユビキチン化を阻害し、形質膜からのリソソーム分解を抑制する⁵⁴⁾。したがって、RFFLは形質膜およびエンドソームに局在する $\Delta F508$ CFTRの構造異常を選択的に認識し、分解へ運ぶ形質膜品質管理ユビキチンリガーゼとして機能すると考えられる。CHIP, RFFL以外にも、ユビキチンリガーゼMARCH2, c-CBLおよびNEDD4Lが形質膜およびpost-Golgi区画におけるCFTR分解に関与する報告があるが、構造異常を有するCFTRを選択的に制御する証拠が不足しており、これらのユビキチンリガーゼがCFTR品質管理に関与するかは不明である⁵⁸⁻⁶¹⁾。

小胞体品質管理機構と同様に、CFTR形質膜品質管理機構にDUBが関与する可能性が高い。エンドソーム局在DUBであるUSP10は初期エンドソームにおいて野生型CFTRのユビキチン化レベルを抑制し、CFTRの形質膜へのリサイクリングを促進する⁶²⁾。CF患者や慢性閉塞性肺疾患(COPD)患者で感染がみられる緑膿菌の病原性因子CifはUSP10活性を抑制し、CFTRのユビキチン化およびリソソーム分解を促進する⁶³⁾。したがって、USP10はエンドソームにおいてCFTRの構造状態を認識し、そのユビキチン化レベルを制御する可能性が高い。しかしながら、CFTRの構造状態を認識し、選択的に天然状態のCFTRを脱ユビキチン化するDUBはいまだ同定されていない。

4. CFTR機能制御を利用した治療薬への応用

近年、CFの根本的治療薬としてCFTRを標的とした分子標的薬(CFTR modulator)が開発されている。現在までに、小胞体でのCFTRフォールディングを改善し、形質膜発現を促進するCFTRコレクター、イオンチャネル機能を改善するCFTRポテンシエーター、形質膜安定性を向上させるCFTRスタビライザー、CFTRタンパク質合成を増強するCFTRアンプリファイヤーの4種類が開発されている(図2B)。

CFTRポテンシエーター Ivacaftor (VX-770, Kalydeco[®]) は初めてのCF根本的治療薬として2012年に欧米で上市され、G551DなどCFTR Class III変異を有する約10%のCF患者に使用されている。IvacaftorはCFTRの膜貫通領域に直接的に結合し、チャネル開口状態を安定化することで、開口確率を改善すると考えられている⁶⁴⁾。

Lumacaftor (VX-809) は臨床適用された初めてのCFTRコレクターであり、フォールディング異常により小胞体関連分解を受けるCFTR Class II変異体の治療に用いられる。臨床試験において、Lumacaftor単剤では有効な治療効果が得られなかったため、LumacaftorはCFTRポテンシエーター Ivacaftor (VX-770) との配合薬Orkambi[®]として使用される。Orkambi[®]はCFの大部分を占める $\Delta F508$ CFTR変異を有するCF初の治療薬として2015年に米国食品医薬品局(FDA)に認可を受けた。Lumacaftorは薬物代謝酵素CYP4を強く誘導し、Ivacaftorの血中濃度を大きく減少させるため、薬物相互作用を改善したCFTRコレクター Tezacaftor (VX-661) がLumacaftorのアナログとして開発されている⁶⁵⁾。TezacaftorとIvacaftorの配合薬Symdeco[®]も2018年からCF根本的治療薬として臨床適用されている。LumacaftorはMSDのフォールディング改善効果に加え、MSD1/2とNBD1のドメイン間相互作用を改善することでCFTR構造を安定化させる⁶⁶⁻⁶⁹⁾。しかしながら、 $\Delta F508$ CFTRフォールディングの回復に必須なNBD1の安定性改善効果は認められていない⁶⁹⁾。実際に、Orkambi[®], Symdeco[®]ともに臨床での治療効果は弱く、有効性は疑問視されている⁷⁰⁾。Kalydeco[®]と同様に、Orkambi[®], Symdeco[®]は

非常に高価で、1年間の治療費はともに2000万円以上であり、その費用対効果を懸念して英国立医療技術評価機構(NICE)は英国国民保健サービス(NHS)でのOrkambi®の使用を推奨しないと発表している⁷¹⁾。

近年、Lumacaftor, Tezacaftorと異なる作用機序を持つ第2世代CFTRコレクターとしてElexacaftor (VX-445)が開発された。Elexacaftorは第1世代CFTRコレクター(Lumacaftor, Tezacaftor)との併用により $\Delta F508$ CFTR膜発現を増加させることから、第1世代CFTRコレクターとは作用点が異なると考えられる⁷²⁾。第一世代コレクターの有効性はNBD1安定化効果により相乗的に増強されることから、ElexacaftorはNBD1安定化作用を有する可能性が考えられる⁶⁹⁾。Elexacaftor, TezacaftorおよびIvacaftorの3種配合薬は2019年10月にTrikafta®としてFDA認可を受けた。Symdeco®は4週間投与により呼吸機能を示す対標準一秒量(%FEV1)を約7%改善する一方、Trikafta®は約14%の改善効果がみられることから、臨床での高い有効性が期待されている^{72,73)}。

CFTRアンプリファイヤーはCFTRの転写・翻訳機構に作用し、CFTRタンパク質量を増加させることを企図した薬剤であり、他のCFTR modulatorとの併用により相乗作用が期待される⁷⁴⁾。PTI-428はいまだ機序に不明な点があるがCFTRのmRNA安定性の向上もしくはCFTR mRNAの翻訳機構に作用し、小胞体で合成されるCFTRタンパク質量を増加するとされる⁷⁵⁾。PTI-428はTezacaftorおよびIvacaftorと併用することによってCFTR機能を約2倍まで増加させることが $\Delta F508$ ホモ接合型変異患者の第II相臨床試験で示されている(NCT02718495)。HDAC阻害剤である4-phenylbutyrate (4-PBA)は非特異的にCFTR mRNAレベルを増加し、CFTR変異体の発現・機能を改善すると考えられる⁷⁴⁻⁷⁶⁾。histone deacetylase 7 (HDAC7)阻害剤SAHA1やromidepsin (FK-228)はCFTRの合成、フォールディング、細胞内小胞輸送、品質管理に関わる多くの分子の遺伝子発現をエピゲノム的に変化させる結果、 $\Delta F508$ CFTRなどのCFTR変異体の発現・機能を改善すると考えられている⁷⁷⁻⁷⁹⁾。

CFTRスタビライザーは変異CFTRに生じる形質膜不安定性を改善することで形質膜安定性を高め、CFTR膜発現および機能の持続を促す薬剤である。形質膜不安定性を示すClass VI変異やCFTRコレクターにより形質膜に発現した $\Delta F508$ CFTRは、形質膜においてその構造の不安定性によりシャペロン依存的、もしくは非依存的にユビキチン化を受ける。ユビキチン化されたCFTRは形質膜もしくはエンドソームにおいてポリユビキチン化され、リソソーム分解経路へと送られる。正常型CFTRの形質膜半減期が15時間以上であるのに対し、 $\Delta F508$ CFTRでは約2時間程度と短い^{46, 48, 49, 80)}。Cavosonstatは初めて臨床試験が行われたCFTRスタビライザーであり、変異CFTR形質膜不安定化を誘導するシャペロン調節因子HOPのS-ニトロソ化を促進することで変異CFTRとHOPの相互作用を

阻害し、CFTR形質膜安定性を改善する可能性が示唆されている⁸¹⁾。しかしながらCavosonstatは臨床(第II相)試験で有効性が示されず、認可には至っていない。CFTRポテンシエーターによってCFTR形質膜安定性が低下すること、また第二世代CFTRコレクターを用いた3剤配合薬でも $\Delta F508$ CFTR形質膜安定性は野生型レベルまで回復しないことから、CFTRスタビライザーの開発は急務である⁸²⁻⁸⁴⁾。

5. CFTR品質管理機構を標的としたCF治療戦略

多くのCFにおいて、CFTR機能欠損はCFTR変異体の分解により引き起こされることから、CFTR分解阻害がCF根本的治療に有効であると考えられる。しかしながら、プロテアソーム阻害剤処理は $\Delta F508$ CFTRの小胞体関連分解を抑制するが、細胞質にユビキチン化 $\Delta F508$ CFTRを蓄積させ、アグリソームを形成する⁸⁵⁾。一方で、小胞体分子シャペロンcalnexin過剰発現により $\Delta F508$ CFTRのユビキチン化および細胞質への逆輸送(retro-translocation)が阻害されると、形質膜に発現可能なfoldable $\Delta F508$ CFTRが小胞体膜上に蓄積する¹⁴⁾。ユビキチン化は $\Delta F508$ CFTRの逆輸送を促進すると考えられることから⁸⁶⁾、CFTR選択的なユビキチン化の阻害、つまり、基質選択性を担うCFTR関連ユビキチンリガーゼの阻害は、形質膜に発現可能なfoldable $\Delta F508$ CFTRを蓄積させ、治療効果が弱いCFTRコレクター薬効の増強に有効であると考えられる。実際に、細胞株モデルにおいて、 $\Delta F508$ CFTRの小胞体関連分解に関与するユビキチンリガーゼRNF5, CHIP, SYVN1のノックダウンはCFTRコレクターの薬効を増強する^{38, 87)}。マウスモデルにおいても、RNF5ノックアウトが $\Delta F508$ CFTR発現・機能を改善し、CF病態を改善することが示されている⁸⁸⁾。また、RNF5低分子阻害剤(Inh-02)は前臨床試験の最終評価系であるCF患者気道上皮初代培養細胞モデルにおいて、 $\Delta F508$ CFTR発現および機能を改善する⁸⁹⁾。したがって、CFTRユビキチンリガーゼ阻害剤はCF根本的治療薬、もしくはその有効性を増強するアドオン薬として有効であると考えられる。CFTR形質膜品質管理に関与するRFFLは $\Delta F508$ CFTRと直接的に結合すること、さらに、RFFLノックアウトマウスが健常であることから、CF治療標的として有効である可能性が高い^{54, 90)}。RFFLノックダウンが $\Delta F508$ CFTR形質膜安定性を改善することから、RFFL阻害剤はfirst-in classのCF根本的治療薬であるCFTRスタビライザーになる可能性が期待される⁹¹⁾。

6. おわりに

CFの原因遺伝子としてCFTRが1989年に同定されて30年が経過し⁹²⁾、遺伝子変異によるCFTR発現・機能異常の分子機構が明らかになりつつある。また、この約7年間でKalydeco® (2012)、Orkambi® (2015)、Symdeco® (2018)、

Trikafta® (2019) と CFTR を標的とした CF 根本的治療薬 (CFTR modulator) が臨床で使用されるようになった。CF 患者の大部分は CFTR フォールディング異常が原因であり、CFTR タンパク質管理機構の理解は、新規 CF 治療標的分子の同定、さらには、新しい分子機構に基づいた CF 根本的治療薬や、現在治療効果が不十分な CFTR modulator の増強薬の開発に貢献することが期待できる。特に、CFTR のユビキチン化は細胞内のさまざまな場所で、多くの制御因子により複雑に制御されており、その選択的な阻害は単一遺伝病である CF の治療へ応用することが可能である。現在、CF の治療標的となりうるユビキチンリガーゼが同定されつつある一方、特定のユビキチンリガーゼを選択的に阻害する低分子化合物は非常に限られている。今後、核酸医薬、タンパク質間相互作用阻害に有効なペプチド医薬、proteolysis-targeting chimeric molecule (PROTAC) 等の分解誘導剤など、多様なモダリティを利用することで、治療満足度の高い CF 薬物治療法の確立に大きく貢献できると期待している。

文 献

- Wakabayashi-Nakao, K., Yu, Y., Nakakuki, M., Hwang, T.C., Ishiguro, H., & Sohma, Y. (2019) Characterization of Δ (G970-T1122)-CFTR, the most frequent CFTR mutant identified in Japanese cystic fibrosis patients. *J. Physiol. Sci.*, **69**, 103–112.
- Ishiguro, H., Steward, M.C., Naruse, S., Ko, S.B., Goto, H., Case, R.M., Kondo, T., & Yamamoto, A. (2009) CFTR functions as a bicarbonate channel in pancreatic duct cells. *J. Gen. Physiol.*, **133**, 315–326.
- Vergani, P., Lockless, S.W., Nairn, A.C., & Gadsby, D.C. (2005) CFTR channel opening by ATP-driven tight dimerization of its nucleotide-binding domains. *Nature*, **433**, 876–880.
- Poulsen, J.H., Fischer, H., Illek, B., & Machen, T.E. (1994) Bicarbonate conductance and pH regulatory capability of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 5340–5344.
- Garcia, M.A., Yang, N., & Quinton, P.M. (2009) Normal mouse intestinal mucus release requires cystic fibrosis transmembrane regulator-dependent bicarbonate secretion. *J. Clin. Invest.*, **119**, 2613–2622.
- Marson, F.A.L., Bertuzzo, C.S., & Ribeiro, J.D. (2016) Classification of CFTR mutation classes. *Lancet Respir. Med.*, **4**, e37–e8.
- Veit, G., Avramescu, R.G., Chiang, A.N., Houck, S.A., Cai, Z., Peters, K.W., Hong, J.S., Pollard, H.B., Guggino, W.B., Balch, W.E., et al. (2016) From CFTR biology toward combinatorial pharmacotherapy: expanded classification of cystic fibrosis mutations. *Mol. Biol. Cell*, **27**, 424–433.
- Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J.P., & Lazdunski, M. (1991) Altered chloride ion channel kinetics associated with the delta F508 cystic fibrosis mutation. *Nature*, **354**, 526–528.
- Okiyoneda, T. & Lukacs, G.L. (2012) Fixing cystic fibrosis by correcting CFTR domain assembly. *J. Cell Biol.*, **199**, 199–204.
- Du, K. & Lukacs, G.L. (2009) Cooperative assembly and misfolding of CFTR domains in vivo. *Mol. Biol. Cell*, **20**, 1903–1915.
- Du, K., Sharma, M., & Lukacs, G.L. (2005) The DeltaF508 cystic fibrosis mutation impairs domain-domain interactions and arrests post-translational folding of CFTR. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **12**, 17–25.
- He, L., Aleksandrov, A.A., Serohijos, A.W., Hegedus, T., Aleksandrov, L.A., Cui, L., Dokholyan, N.V., & Riordan, J.R. (2008) Multiple membrane-cytoplasmic domain contacts in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) mediate regulation of channel gating. *J. Biol. Chem.*, **283**, 26383–26390.
- Pind, S., Riordan, J.R., & Williams, D.B. (1994) Participation of the endoplasmic reticulum chaperone calnexin (p88, IP90) in the biogenesis of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J. Biol. Chem.*, **269**, 12784–12788.
- Okiyoneda, T., Harada, K., Takeya, M., Yamahira, K., Wada, I., Shuto, T., Suico, M.A., Hashimoto, Y., & Kai, H. (2004) Delta F508 CFTR pool in the endoplasmic reticulum is increased by calnexin overexpression. *Mol. Biol. Cell*, **15**, 563–574.
- Loo, M.A., Jensen, T.J., Cui, L., Hou, Y., Chang, X.B., & Riordan, J.R. (1998) Perturbation of Hsp90 interaction with nascent CFTR prevents its maturation and accelerates its degradation by the proteasome. *EMBO J.*, **17**, 6879–6887.
- Meacham, G.C., Lu, Z., King, S., Sorscher, E., Tousson, A., & Cyr, D.M. (1999) The Hdj-2/Hsc70 chaperone pair facilitates early steps in CFTR biogenesis. *EMBO J.*, **18**, 1492–1505.
- Wang, X., Venable, J., LaPointe, P., Hutt, D.M., Koulov, A.V., Coppinger, J., Gurkan, C., Kellner, W., Matteson, J., Plutner, H., et al. (2006) Hsp90 cochaperone Aha1 downregulation rescues misfolding of CFTR in cystic fibrosis. *Cell*, **127**, 803–815.
- Qu, B.H. & Thomas, P.J. (1996) Alteration of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator folding pathway. *J. Biol. Chem.*, **271**, 7261–7264.
- Rabeh, W.M., Bossard, F., Xu, H., Okiyoneda, T., Bagdany, M., Mulvihill, C.M., Du, K., di Bernardo, S., Liu, Y., Konermann, L., et al. (2012) Correction of both NBD1 energetics and domain interface is required to restore Δ F508 CFTR folding and function. *Cell*, **148**, 150–163.
- Mendoza, J.L., Schmidt, A., Li, Q., Nuvaga, E., Barrett, T., Bridges, R.J., Feranchak, A.P., Brautigam, C.A., & Thomas, P.J. (2012) Requirements for efficient correction of Δ F508 CFTR revealed by analyses of evolved sequences. *Cell*, **148**, 164–174.
- Kim, S.J., Yoon, J.S., Shishido, H., Yang, Z., Rooney, L.A., Barral, J.M., & Skach, W.R. (2015) Protein folding. Translational tuning optimizes nascent protein folding in cells. *Science*, **348**, 444–448.
- Veit, G., Oliver, K., Apaja, P.M., Perdomo, D., Bidaud-Meynard, A., Lin, S.T., Guo, J., Icyuz, M., Sorscher, E.J., Hartman, J.L. IV, et al. (2016) Ribosomal Stalk Protein Silencing Partially Corrects the Δ F508-CFTR Functional Expression Defect. *PLoS Biol.*, **14**, e1002462.
- Wang, X., Matteson, J., An, Y., Moyer, B., Yoo, J.S., Bannykh, S., Wilson, I.A., Riordan, J.R., & Balch, W.E. (2004) COPII-dependent export of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator from the ER uses a di-acidic exit code. *J. Cell Biol.*, **167**, 65–74.
- Chang, X.B., Cui, L., Hou, Y.X., Jensen, T.J., Aleksandrov, A.A., Mengos, A., & Riordan, J.R. (1999) Removal of multiple arginine-framed trafficking signals overcomes misprocessing of delta F508 CFTR present in most patients with cystic fibrosis. *Mol. Cell*, **4**, 137–142.
- Kim Chiaw, P., Huan, L.J., Gagnon, S., Ly, D., Sweezey, N., Rotin, D., Deber, C.M., & Bear, C.E. (2009) Functional rescue of DeltaF508-CFTR by peptides designed to mimic sorting motifs. *Chem. Biol.*, **16**, 520–530.
- Okiyoneda, T., Niibori, A., Harada, K., Kohno, T., Michalak, M.,

- Duszyk, M., Wada, I., Ikawa, M., Shuto, T., Suico, M.A., et al. (2008) Role of calnexin in the ER quality control and productive folding of CFTR; differential effect of calnexin knockout on wild-type and DeltaF508 CFTR. *Biochim. Biophys. Acta*, **1783**, 1585–1594.
- 27) Farinha, C.M. & Amaral, M.D. (2005) Most F508del-CFTR is targeted to degradation at an early folding checkpoint and independently of calnexin. *Mol. Cell Biol.*, **25**, 5242–5252.
- 28) Yang, Y., Janich, S., Cohn, J.A., & Wilson, J.M. (1993) The common variant of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is recognized by hsp70 and degraded in a pre-Golgi nonlysosomal compartment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 9480–9484.
- 29) Meacham, G.C., Patterson, C., Zhang, W., Younger, J.M., & Cyr, D.M. (2001) The Hsc70 co-chaperone CHIP targets immature CFTR for proteasomal degradation. *Nat. Cell Biol.*, **3**, 100–105.
- 30) Ward, C.L., Omura, S., & Kopito, R.R. (1995) Degradation of CFTR by the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell*, **83**, 121–127.
- 31) Jensen, T.J., Loo, M.A., Pind, S., Williams, D.B., Goldberg, A.L., & Riordan, J.R. (1995) Multiple proteolytic systems, including the proteasome, contribute to CFTR processing. *Cell*, **83**, 129–135.
- 32) Wang, B., Heath-Engel, H., Zhang, D., Nguyen, N., Thomas, D.Y., Hanrahan, J.W., & Shore, G.C. (2008) BAP31 interacts with Sec61 translocons and promotes retrotranslocation of CFTRDeltaF508 via the derlin-1 complex. *Cell*, **133**, 1080–1092.
- 33) Sato, S., Ward, C.L., & Kopito, R.R. (1998) Cotranslational ubiquitination of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in vitro. *J. Biol. Chem.*, **273**, 7189–7192.
- 34) Younger, J.M., Chen, L., Ren, H.Y., Rosser, M.F., Turnbull, E.L., Fan, C.Y., Patterson, C., & Cyr, D.M. (2006) Sequential quality-control checkpoints triage misfolded cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Cell*, **126**, 571–582.
- 35) El Khouri, E., Le Pavec, G., Toledano, M.B., & Delaunay-Moisan, A. (2013) RNF185 is a novel E3 ligase of endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) that targets cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). *J. Biol. Chem.*, **288**, 31177–31191.
- 36) Morito, D., Hirao, K., Oda, Y., Hosokawa, N., Tokunaga, F., Cyr, D.M., Tanaka, K., Iwai, K., & Nagata, K. (2008) Gp78 cooperates with RMA1 in endoplasmic reticulum-associated degradation of CFTRDeltaF508. *Mol. Biol. Cell*, **19**, 1328–1336.
- 37) Yoshida, Y., Chiba, T., Tokunaga, F., Kawasaki, H., Iwai, K., Suzuki, T., Ito, Y., Matsuoka, K., Yoshida, M., Tanaka, K., et al. (2002) E3 ubiquitin ligase that recognizes sugar chains. *Nature*, **418**, 438–442.
- 38) Ramachandran, S., Osterhaus, S.R., Parekh, K.R., Jacobi, A.M., Behlke, M.A., & McCray, P.B. Jr. (2016) SYVN1, NEDD8, and FBXO2 Proteins Regulate Δ F508 Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Ubiquitin-mediated Proteasomal Degradation. *J. Biol. Chem.*, **291**, 25489–25504.
- 39) Hassink, G.C., Zhao, B., Sompallae, R., Altun, M., Gastaldello, S., Zinin, N.V., Masucci, M.G., & Lindsten, K. (2009) The ER-resident ubiquitin-specific protease 19 participates in the UPR and rescues ERAD substrates. *EMBO Rep.*, **10**, 755–761.
- 40) Ahner, A., Gong, X., Schmidt, B.Z., Peters, K.W., Rabeh, W.M., Thibodeau, P.H., Lukacs, G.L., & Frizzell, R.A. (2013) Small heat shock proteins target mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator for degradation via a small ubiquitin-like modifier-dependent pathway. *Mol. Biol. Cell*, **24**, 74–84.
- 41) Gong, X., Ahner, A., Roldan, A., Lukacs, G.L., Thibodeau, P.H., & Frizzell, R.A. (2016) Non-native Conformers of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator NBD1 Are Recognized by Hsp27 and Conjugated to SUMO-2 for Degradation. *J. Biol. Chem.*, **291**, 2004–2017.
- 42) Gong, X., Liao, Y., Ahner, A., Larsen, M.B., Wang, X., Bertrand, C.A., & Frizzell, R.A. (2019) Different SUMO paralogs determine the fate of wild-type and mutant CFTRs: biogenesis versus degradation. *Mol. Biol. Cell*, **30**, 4–16.
- 43) Kälin, N., Claass, A., Sommer, M., Puchelle, E., & Tümmler, B. (1999) DeltaF508 CFTR protein expression in tissues from patients with cystic fibrosis. *J. Clin. Invest.*, **103**, 1379–1389.
- 44) Denning, G.M., Anderson, M.P., Amara, J.F., Marshall, J., Smith, A.E., & Welsh, M.J. (1992) Processing of mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is temperature-sensitive. *Nature*, **358**, 761–764.
- 45) Van Goor, F., Hadida, S., Grootenhuis, P.D., Burton, B., Stack, J.H., Straley, K.S., Decker, C.J., Miller, M., McCartney, J., Olson, E.R., et al. (2011) Correction of the F508del-CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 18843–18848.
- 46) Sharma, M., Pampinella, F., Nemes, C., Benharouga, M., So, J., Du, K., Bache, K.G., Papsin, B., Zerangue, N., Stenmark, H., et al. (2004) Misfolding diverts CFTR from recycling to degradation: quality control at early endosomes. *J. Cell Biol.*, **164**, 923–933.
- 47) Glozman, R., Okiyoneda, T., Mulvihill, C.M., Rini, J.M., Barriere, H., & Lukacs, G.L. (2009) N-glycans are direct determinants of CFTR folding and stability in secretory and endocytic membrane traffic. *J. Cell Biol.*, **184**, 847–862.
- 48) Sharma, M., Benharouga, M., Hu, W., & Lukacs, G.L. (2001) Conformational and temperature-sensitive stability defects of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in post-endoplasmic reticulum compartments. *J. Biol. Chem.*, **276**, 8942–8950.
- 49) Okiyoneda, T., Barrière, H., Bagdány, M., Rabeh, W.M., Du, K., Höhfeld, J., Young, J.C., & Lukacs, G.L. (2010) Peripheral protein quality control removes unfolded CFTR from the plasma membrane. *Science*, **329**, 805–810.
- 50) Benharouga, M., Haardt, M., Kartner, N., & Lukacs, G.L. (2001) COOH-terminal truncations promote proteasome-dependent degradation of mature cystic fibrosis transmembrane conductance regulator from post-Golgi compartments. *J. Cell Biol.*, **153**, 957–970.
- 51) Gentzsch, M., Chang, X.B., Cui, L., Wu, Y., Ozols, V.V., Choudhury, A., Pagano, R.E., & Riordan, J.R. (2004) Endocytic trafficking routes of wild type and DeltaF508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Mol. Biol. Cell*, **15**, 2684–2696.
- 52) Bagdany, M., Veit, G., Fukuda, R., Avramescu, R.G., Okiyoneda, T., Baakli, I., Singh, J., Sovak, G., Xu, H., Apaja, P.M., et al. (2017) Chaperones rescue the energetic landscape of mutant CFTR at single molecule and in cell. *Nat. Commun.*, **8**, 398.
- 53) Okiyoneda, T., Apaja, P.M., & Lukacs, G.L. (2011) Protein quality control at the plasma membrane. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **23**, 483–491.
- 54) Okiyoneda, T., Veit, G., Sakai, R., Aki, M., Fujihara, T., Higashi, M., Susuki-Miyata, S., Miyata, M., Fukuda, N., Yoshida, A., et al. (2018) Chaperone-Independent Peripheral Quality Control of CFTR by RFFL E3 Ligase. *Dev. Cell*, **44**, 694–708.e7.
- 55) McDonald, E.R. 3rd & El-Deiry, W.S. (2004) Suppression of caspase-8- and -10-associated RING proteins results in sensitization to death ligands and inhibition of tumor cell growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 6170–6175.
- 56) Araki, K., Kawamura, M., Suzuki, T., Matsuda, N., Kanbe, D., Ishii, K., Ichikawa, T., Kumanishi, T., Chiba, T., Tanaka, K., et

- al. (2003) A palmitoylated RING finger ubiquitin ligase and its homologue in the brain membranes. *J. Neurochem.*, **86**, 749–762.
- 57) Sakai, R., Fukuda, R., Unida, S., Aki, M., Ono, Y., Endo, A., Kusumi, S., Koga, D., Fukushima, T., Komada, M., et al. (2019) The integral function of the endocytic recycling compartment is regulated by RFFL-mediated ubiquitylation of Rab11 effectors. *J. Cell Sci.*, **132**, 132.
- 58) Cheng, J. & Guggino, W. (2013) Ubiquitination and degradation of CFTR by the E3 ubiquitin ligase MARCH2 through its association with adaptor proteins CAL and STX6. *PLoS One*, **8**, e68001.
- 59) Ye, S., Cihil, K., Stolz, D.B., Pilewski, J.M., Stanton, B.A., & Swiatecka-Urban, A. (2010) c-Cbl facilitates endocytosis and lysosomal degradation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human airway epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, **285**, 27008–27018.
- 60) Caohuy, H., Jozwik, C., & Pollard, H.B. (2009) Rescue of DeltaF508-CFTR by the SGK1/Nedd4-2 signaling pathway. *J. Biol. Chem.*, **284**, 25241–25253.
- 61) Fu, L., Rab, A., Tang, L., Bebok, Z., Rowe, S.M., Bartoszewski, R., & Collawn, J.F. (2015) Δ F508 CFTR surface stability is regulated by DAB2 and CHIP-mediated ubiquitination in post-endocytic compartments. *PLoS One*, **10**, e0123131.
- 62) Bomberger, J.M., Barnaby, R.L., & Stanton, B.A. (2009) The deubiquitinating enzyme USP10 regulates the post-endocytic sorting of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in airway epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, **284**, 18778–18789.
- 63) Bomberger, J.M., Ye, S., Maceachran, D.P., Koeppe, K., Barnaby, R.L., O'Toole, G.A., & Stanton, B.A. (2011) A *Pseudomonas aeruginosa* toxin that hijacks the host ubiquitin proteolytic system. *PLoS Pathog.*, **7**, e1001325.
- 64) Liu, F., Zhang, Z., Levit, A., Levring, J., Touhara, K.K., Shoichet, B.K., & Chen, J. (2019) Structural identification of a hotspot on CFTR for potentiation. *Science*, **364**, 1184–1188.
- 65) Garg, V., Shen, J., Li, C., Agarwal, S., Gebre, A., Robertson, S., Huang, J., Han, L., Jiang, L., Stephan, K., et al. (2019) Pharmacokinetic and Drug-Drug Interaction Profiles of the Combination of Tezacaftor/Ivacaftor. *Clin. Transl. Sci.*, **12**, 267–275.
- 66) Ren, H.Y., Grove, D.E., De La Rosa, O., Houck, S.A., Sopha, P., Van Goor, F., Hoffman, B.J., & Cyr, D.M. (2013) VX-809 corrects folding defects in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein through action on membrane-spanning domain 1. *Mol. Biol. Cell*, **24**, 3016–3024.
- 67) Hudson, R.P., Dawson, J.E., Chong, P.A., Yang, Z., Millen, L., Thomas, P.J., Brouillette, C.G., & Forman-Kay, J.D. (2017) Direct Binding of the Corrector VX-809 to Human CFTR NBD1: Evidence of an Allosteric Coupling between the Binding Site and the NBD1:CL4 Interface. *Mol. Pharmacol.*, **92**, 124–135.
- 68) Loo, T.W., Bartlett, M.C., & Clarke, D.M. (2013) Corrector VX-809 stabilizes the first transmembrane domain of CFTR. *Biochem. Pharmacol.*, **86**, 612–619.
- 69) Okiyoneda, T., Veit, G., Dekkers, J.F., Bagdany, M., Soya, N., Xu, H., Roldan, A., Verkman, A.S., Kurth, M., Simon, A., et al. (2013) Mechanism-based corrector combination restores Δ F508-CFTR folding and function. *Nat. Chem. Biol.*, **9**, 444–454.
- 70) Wainwright, C.E., Elborn, J.S., Ramsey, B.W., Marigowda, G., Huang, X., Cipolli, M., Colombo, C., Davies, J.C., De Boeck, K., Flume, P.A., et al.; TRAFFIC Study Group; TRANSPORT Study Group. (2015) Lumacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del CFTR. *N. Engl. J. Med.*, **373**, 220–231.
- 71) Gulland, A. (2016) Cystic fibrosis drug is not cost effective, says NICE. *BMJ*, **353**, i3409.
- 72) Keating, D., Marigowda, G., Burr, L., Daines, C., Mall, M.A., McKone, E.F., Ramsey, B.W., Rowe, S.M., Sass, L.A., Tullis, E., et al.; VX16-445-001 Study Group. (2018) VX-445-Tezacaftor-Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two Phe508del Alleles. *N. Engl. J. Med.*, **379**, 1612–1620.
- 73) Rowe, S.M., Daines, C., Ringshausen, F.C., Kerem, E., Wilson, J., Tullis, E., Nair, N., Simard, C., Han, L., Ingenito, E.P., et al. (2017) Tezacaftor-Ivacaftor in Residual-Function Heterozygotes with Cystic Fibrosis. *N. Engl. J. Med.*, **377**, 2024–2035.
- 74) Molinski, S.V., Ahmadi, S., Ip, W., Ouyang, H., Villella, A., Miller, J.P., Lee, P.S., Kulleperuma, K., Du, K., Di Paola, M., et al. (2017) Orkambi[®] and amplifier co-therapy improves function from a rare. *EMBO Mol. Med.*, **9**, 1224–1243.
- 75) Mijnders, M., Kleizen, B., & Braakman, I. (2017) Correcting CFTR folding defects by small-molecule correctors to cure cystic fibrosis. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **34**, 83–90.
- 76) Rubenstein, R.C., Egan, M.E., & Zeitlin, P.L. (1997) In vitro pharmacologic restoration of CFTR-mediated chloride transport with sodium 4-phenylbutyrate in cystic fibrosis epithelial cells containing delta F508-CFTR. *J. Clin. Invest.*, **100**, 2457–2465.
- 77) Hutt, D.M., Herman, D., Rodrigues, A.P., Noel, S., Pilewski, J.M., Matteson, J., Hoch, B., Kellner, W., Kelly, J.W., Schmidt, A., et al. (2010) Reduced histone deacetylase 7 activity restores function to misfolded CFTR in cystic fibrosis. *Nat. Chem. Biol.*, **6**, 25–33.
- 78) Anglès, F., Hutt, D.M., & Balch, W.E. (2019) HDAC inhibitors rescue multiple disease-causing CFTR variants. *Hum. Mol. Genet.*, **28**, 1982–2000.
- 79) Pankow, S., Bamberger, C., Calzolari, D., Martínez-Bartolomé, S., Lavallée-Adam, M., Balch, W.E., & Yates, J.R. 3rd. (2015) Δ F508 CFTR interactome remodelling promotes rescue of cystic fibrosis. *Nature*, **528**, 510–516.
- 80) Benharouga, M., Sharma, M., So, J., Haardt, M., Drzymala, L., Popov, M., Schwapach, B., Grinstein, S., Du, K., & Lukacs, G.L. (2003) The role of the C terminus and Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor in the functional expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in nonpolarized cells and epithelia. *J. Biol. Chem.*, **278**, 22079–22089.
- 81) Donaldson, S.H., Solomon, G.M., Zeitlin, P.L., Flume, P.A., Casey, A., McCoy, K., Zemanick, E.T., Mandagere, A., Troha, J.M., Shoemaker, S.A., et al. (2017) Pharmacokinetics and safety of cavosonstat (N91115) in healthy and cystic fibrosis adults homozygous for F508DEL-CFTR. *J. Cyst. Fibros.*, **16**, 371–379.
- 82) Cholon, D.M., Quinney, N.L., Fulcher, M.L., Esther, C.R. Jr., Das, J., Dokholyan, N.V., Randell, S.H., Boucher, R.C., & Gentsch, M. (2014) Potentiator ivacaftor abrogates pharmacological correction of Δ F508 CFTR in cystic fibrosis. *Sci. Transl. Med.*, **6**, 246ra96.
- 83) Veit, G., Avramescu, R.G., Perdomo, D., Phuan, P.W., Bagdany, M., Apaja, P.M., Borot, F., Szollosi, D., Wu, Y.S., Finkbeiner, W.E., et al. (2014) Some gating potentiators, including VX-770, diminish Δ F508-CFTR functional expression. *Sci. Transl. Med.*, **6**, 246ra97.
- 84) Avramescu, R.G., Kai, Y., Xu, H., Bidaud-Meynard, A., Schnúr, A., Frenkiel, S., Matouk, E., Veit, G., & Lukacs, G.L. (2017) Mutation-specific downregulation of CFTR2 variants by gating potentiators. *Hum. Mol. Genet.*, **26**, 4873–4885.
- 85) Johnston, J.A., Ward, C.L., & Kopito, R.R. (1998) Aggresomes: a cellular response to misfolded proteins. *J. Cell Biol.*, **143**, 1883–1898.
- 86) Nakatsukasa, K., Huyer, G., Michaelis, S., & Brodsky, J.L.

- (2008) Dissecting the ER-associated degradation of a misfolded polytopic membrane protein. *Cell*, **132**, 101–112.
- 87) Grove, D.E., Rosser, M.F., Ren, H.Y., Naren, A.P., & Cyr, D.M. (2009) Mechanisms for rescue of correctable folding defects in CFTRDelta F508. *Mol. Biol. Cell*, **20**, 4059–4069.
- 88) Tomati, V., Sondo, E., Armirotti, A., Caci, E., Pesce, E., Marini, M., Gianotti, A., Jeon, Y.J., Cilli, M., Pistorio, A., et al. (2015) Genetic Inhibition Of The Ubiquitin Ligase Rnf5 Attenuates Phenotypes Associated To F508del Cystic Fibrosis Mutation. *Sci. Rep.*, **5**, 12138.
- 89) Sondo, E., Falchi, F., Caci, E., Ferrera, L., Giacomini, E., Pesce, E., Tomati, V., Mandrup Bertozzi, S., Goldoni, L., Armirotti, A., et al. (2018) Pharmacological Inhibition of the Ubiquitin Ligase RNF5 Rescues F508del-CFTR in Cystic Fibrosis Airway Epithelia. *Cell Chem. Biol.*, **25**, 891–905.e8.
- 90) Ahmed, A.U., Moulin, M., Coumaillau, F., Wong, W.W., Miasari, M., Carter, H., Silke, J., Cohen-Tannoudji, M., Vince, J.E., & Vaux, D.L. (2009) CARP2 deficiency does not alter induction of NF-kappaB by TNFalpha. *Curr. Biol.*, **19**, R15–7z., author reply, R17–R19.
- 91) Fukuda, R. & Okiyoned, T. (2018) Peripheral Protein Quality Control as a Novel Drug Target for CFTR Stabilizer. *Front. Pharmacol.*, **9**, 1100.
- 92) Riordan, J.R., Rommens, J.M., Kerem, B., Alon, N., Rozmahel, R., Grzelczak, Z., Zielenski, J., Lok, S., Plavsic, N., Chou, J.L., et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, **245**, 1066–1073.

著者寸描

●福田 亮介 (ふくだ りょうすけ)



関西学院大学理工学部生命医化学科助教。博士(薬科学)。

■略歴 1987年宮崎県に生れる。2015年熊本大学大学院薬学部創薬生命薬科学専攻博士課程修了。同年McGill大学医学部生理学科にてポストドクトラルフェロー。18年より現職。

■研究テーマと抱負 遺伝性疾患の発症機構の解析を通じて治療法開発や類似疾患

の病態機序理解を目指している。CFなどの単一遺伝子変異による細胞の形質変化機構に焦点を当て、変異型によらない遺伝性疾患の治療法開発を行ってきたい。

■ウェブサイト <https://okilabkgu.wixsite.com/okilab2013>

■趣味 食べ歩き, 音楽。

●沖米田 司 (おきよねだ つかさ)



関西学院大学理工学部生命医化学科教授。博士(薬学)。

■略歴 1975年熊本県に生る。98年熊本大学薬学部卒業。2003年熊本大学大学院薬学研究科修了。同年JST博士研究員。06年トロント小児病院研究所細胞生物学部門博士研究員。08年マギル大学医学部生理学科リサーチアソシエイト。13年関西学院大学理工学部准教授を経て、19年

より現職。

■研究テーマと抱負 難治性疾患に関連する膜タンパク質品質管理機構の解明と創薬への応用。有望な創薬標的分子とその活性を制御する化合物を発見し、嚢胞性線維症等の難治性疾患の根本的治療薬開発まで発展させたい。

■ウェブサイト <https://sci-tech.ksc.kwansei.ac.jp/~okiyoneda/okilab.html>

■趣味 サッカー観戦。