

組織的な若手研究者海外派遣事業 報告書

人間総合科学研究科 実験病理学研究室 研究員 渡邊幸秀

<出張先>

スウェーデン ウプサラ大学 ルードヴィッグ癌研究所

<期間>

2010 年 9 月 15 日 ～ 2010 年 12 月 12 日 (89 日間)

<研究内容>

私は現在まで、TGF- β シグナル系の異常とがん化に関して研究を行ってきました。TGF- β は細胞の増殖や分化、アポトーシスなど様々な生体反応を調節しているサイトカインであり、個体組織の発生や維持に重要な働きを担っている。しかし、TGF- β シグナル経路に異常が生じることで、がんを含む多くの疾患に関与することが知られている。私たちのグループでは TGF- β によって発現が制御されている遺伝子群を検討したところ、TMEPAI を同定した。TMEPAI は多くの癌細胞で発現が亢進しているという報告がされているが、その機能に関してはほとんど明らかになっていなかった。そこで、私は TMEPAI の機能解析を行った。その結果、TMEPAI は TGF- β シグナルを抑制することを見出した。よって、TMEPAI は TGF- β シグナルによって発現が誘導され、TGF- β シグナルを抑制するという負のフィードバック機構を形成しており、癌細胞で発現の亢進した TMEPAI が TGF- β シグナルを抑制することで、がんの発生や進展に関与している可能性が示された。さらに、TMEPAI による TGF- β シグナル抑制のメカニズムについて検討を行った。TGF- β シグナル伝達経路は、細胞外リガンドである TGF- β が細胞膜上に存在する 2 種類のセリンスレオニンキナーゼ受容体に結合することで開始され、その後、細胞内シグナル伝達分子である Smad2/3 が受容体キナーゼによりリン酸化される。リン酸化された Smad2/3 は Smad4 と複合体を形成し、核へと移行し、他の転写因子と共に DNA に結合し、標的遺伝子の発現を調節している。まず初めに、Smad2/3 のリン酸化に対する影響を検討したところ、TMEPAI は Smad2/3 のリン酸化を抑制していた。したがって、Smad2/3 のリン酸化の上流の過程で抑制していると考えられる。しかし、TMEPAI は受容体とは結合しないことから、Smad2/3 との結合を検討したところ、TMEPAI は Smad2/3 と結合していた。さらに、結合部位を検討したところ、TMEPAI の有する SIM (Smad interaction motif) で結合していた。TMEPAI の SIM ドメインに変異を導入すると TGF- β シグナル抑制機能が消失することから、TMEPAI による TGF- β シグナル抑制には、SIM を介した Smad2/3 との結合が重要であると考えられた。一方で、TMEPAI はその構造内に SIM ドメイン以外にも WW ドメインタンパク質と結合するモチーフである PY モチーフを 2 つ有している。そこで、これら PY モチーフに変異を導入した変異体を作製したところ、Smad2/3 とは結合するが、TGF- β シグナル抑制機能がみられなくなった。よっ

て PY モチーフも SIM ドメインと同様に重要であると考えられる。そこで、私はスウェーデンで TMEPAI の PY モチーフに結合するパートナータンパク質を同定することを研究テーマとしました。始めに、TMEPAI の WT (Wild type)、SIM に変異を導入した変異体、PY モチーフに変異を導入した変異体を安定的に発現する細胞株を各々樹立した。その後、様々な条件下において免疫沈降法および SDS-PAGE を行い、TMEPAI と共沈した分子を単離し、MS 解析によって分子を同定した。結果として、NEDD4 や HECW2 などの WWドメインを有する E3 ユビキチンリガーゼが得られた。今後、これらタンパク質が TMEPAI による TGF- β シグナル抑制作用にどのように影響しているか検討する予定である。

<感想>

ルードヴィッグ癌研究所はスウェーデン第 4 の都市であるウプサラという街にある。ウプサラは 1477 年に創立したウプサラ大学を中心とした学園都市で、スウェーデンの首都であるストックホルムからは電車で 40 分の距離にあり、ロケーションおよび緑がたくさんある環境はつくばに似た雰囲気を持っている街である。スカンジナビア半島で最古の歴史を持つウプサラ大学は、分類学の父と称されるカール・フォン・リンネや温度の定義をしたセルシウスなどを輩出した大学であり、様々な場所で歴史または伝統の重さを体感できた。スウェーデンも日本と同じくらい治安の良い国であり、深夜の外出なども問題ない。スウェーデン人の気質も日本人に似ているところがあり、少しシャイで、時間に遅れることなく、真面目である印象を受け、親しみやすかった。しかし、研究室の中は、ヨーロッパ、アジア各国から集まっており、文化や国民性の違いを垣間見ることができた。排他的であると言われる日本人には、寛容性という部分を身につけなければならないと実感できた。研究に関しては、私の指導教官である加藤光保先生も、かつてルードヴィッグ癌研究所に留学していたこともあり、研究テーマや用いている手技手法も似ており、すんなりと慣れることができた。しかし、アイソトープの扱いはとてもルーズであり、ほぼ開け放たれたアイソトープ実験室には驚いた。一方では、有機溶媒の扱いには、とても敏感であり、日本では通常実験台で行う作業も、エアダクトの完備された実験スペースで行うなど、徹底した管理が求められるなど、違った点も見受けられた。また、学生は手を動かすよりも、文献を読むことや先生とのディスカッションに多くの時間を割いており、話し合うことの大切さを学ぶことができた。しかしながら、自分の語学能力では十分に自分の思っていることが表現できなかったり、相手の意図が理解できなかったりと、自分が今後すべき問題点も再確認することができた。今回の短期海外派遣を通じて多くのことを学ぶことができた。サポートして頂いたたくさんの人に感謝したい。