

学生優秀発表賞受賞者：近藤綾乃 演題番号 学 21

Cullin-3 ユビキチン複合体による 膜型メタロプロテアーゼ制御機構解析

近藤 綾乃^{*1§} 松木 依理奈^{*1} 楠本 智章^{*1} 藤原 章^{*1}
坂上 倫久^{*2} 前川 大志^{*2} 藤崎 亜耶子^{*2} 福田 信治^{*2}
東山 繁樹^{*2} 中山 寛尚^{*1,2}

I. 研究の概要

【目 的】

細胞膜に発現する細胞膜貫通型蛋白質には、細胞膜上で膜型蛋白質分解酵素 ADAM によって切断 (shedding) されることで、細胞増殖・分化等を制御するものが多く知られている。細胞膜蛋白質の shedding は生理反応ならびに病態反応と密接に関わっていることから、新たな創薬ターゲットとして注目されている。しかしながら、ADAM は基質特異性が低いことから、特異的な基質に対する阻害剤開発には未だ至っていない。そこで我々は膜型増殖因子 EGF ファミリー分子の shedding 評価系を用いて、ADAM の基質選択性の分子機構解析を行った。

【方 法】

Shedding 評価系には、我々がすでに報告しているアルカリフォスファターゼ (AP) を融合した EGF ファミリー分子 4 種類 HB-EGF、amphiregulin (AREG)、transforming growth factor- α (TGF- α)、epiregulin (EREG) を、それぞれ発現する HT1080 細胞株を用いた。Shedding によって培地中に遊離した AP 融合蛋白を回収して AP 酵素活性を測定

することで shedding を定量的に評価した。

【結 果】

これらの細胞にアクチン重合阻害剤 latrunculin A または cytochalasin D を処理したところ、AREG、TGF- α 、EREG の shedding が有意に上昇した。一方でアクチン重合阻害剤によって誘導された shedding は ADAM 阻害剤 KB-R7785 によって抑制されたことから、EGF ファミリーに対する ADAM の shedding 活性はアクチン細胞骨格によって制御されていることが示唆された。さらに我々は、近年、新たなアクチン骨格制御分子として同定された Cullin-3 (Cul3) E3 ユビキチンリガーゼ複合体に着目して検討を行った。Cul3 を siRNA によってノックダウンしたところ、EGF ファミリー分子の中で AREG shedding のみが選択的に抑制されることを見出した。また Cul3 による AREG shedding 制御には RhoA を介したアクチン骨格制御が関わっていることが明らかとなった (図)。

【考 察】

本研究から、Cul3 複合体による新たな ADAM 制御分子機構が明らかとなった。Cul3 複合体は AREG shedding を選択的に制御することから、この複合体解析から ADAM の基質認識に関わる分子

^{*1} 広島国際大学保健医療学部医療技術学科臨床検査学専攻

^{*2} 愛媛大学プロテオサイエンスセンター細胞増殖・腫瘍制御部門 §s315119@ms.hirokoku-u.ac.jp

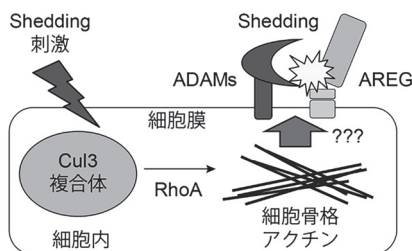


図 Cullin-3 ユビキチン複合体による膜型メタロプロテアーゼ制御機構

本研究では EGF ファミリー分子である amphiregulin (AREG) の細胞膜上での切断反応 (shedding) の分子メカニズム解析を行った。その結果、Cullin-3 (Cul3) E3 ユビキチンリガーゼ複合体による新たな制御機構が明らかとなった。Cul3 複合体は RhoA を介して細胞骨格を変化させて膜型プロテアーゼ ADAMs の酵素活性を制御していることが明らかとなった。今後は細胞骨格が shedding 反応にどのような影響をもたらすのかを解明する予定である。

機構が解明できるものと考えられる。これらの知見から、より特異性の高い ADAM 阻害剤の開発に繋がるものと考えている。本研究内容は以下の論文に発表済みである (Biochem Biophys Res Commun 2018; 499(1): 17-23.)。

II. 受賞の感想

第 13 回日本臨床検査学教育学会学術大会で優秀発表賞というとても名誉ある賞を頂き、誠にありがとうございました。今回の発表が受賞に繋がったことは、私一人の力だけでなく、興味深い研究に携わらせて下さった指導教官 中山寛尚先生や、発表の手助けをして下さった諸先生方の支えがあってこそのものであり、皆様方に感謝を申し上げます。学会での口頭発表は、初めての経験ということもあり、直前までとても緊張していました。そのため、研究内容について改めて知識を深め、人前で何度も発表練習を行い、研究室メンバーや先生方からアドバイスを頂くことで、自信をつけて当日に臨みました。これらの準備の結果、当日の発表では焦ることなく、良い緊張感を持ちながら発表が行えたと感じています。発表後、しばらくは上手く発表が行えたか不安な気持ちだったのですが、中山先生に「お疲れ様」と声をかけて頂き、握手を交わした際に発表が終わったこ

とを実感して、今まで味わったことのない達成感に包まれたことが印象に残っています。その後、受賞の連絡を頂いた際には、まさか賞を頂けるとは思いもしなかったもので、驚いたのですが非常に嬉しかったです。今回の経験は、私自身にとって忘れられない経験となりました。

III. 将来への抱負

私は現在、臨床検査技師の国家資格取得に向けて学業に励んでいます。臨床検査技師として、患者さんのためにより良い医療を提供するには自らが常に向上していくことが大切であると考えています。そのため、今後もこのような学会などへの参加を通して新たな知識に触れることで、自らを向上させていきたいと思っています。また、今回の発表の経験から、自分の考えや知識を相手に伝えることの難しさを学びました。臨床検査技師はチーム医療の一員として、多職種の方と意見交換を行ったり、患者さんへ検査や疾患についての説明を行う際に、このような力がとても重要であると考えます。今回受賞を頂けたことにより、自信を身に付けることができたので、医療の現場で活躍する際には、相手の立場になり、より分かりやすく伝える事を意識していきたいと考えています。