

平成 30 年 10 月 30 日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201880091

氏 名 佐藤 奈波

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

- 派遣先：都市名 オックスフォード (国名 英国)
- 研究課題名 (和文) : 上皮細胞の浸潤能の獲得のメカニズム
- 派遣期間：平成 30 年 7 月 1 日 ~ 平成 30 年 9 月 30 日 ( 92 日間)
- 受入機関名・部局名：オックスフォード大学ケネディーリウマチ研究所
- 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

MT1-MMP は細胞膜上で、コラーゲンなどの ECM 分解や他の膜タンパクのプロセッシングを行い、細胞の移動やがんの浸潤に極めて重要な役割を果たす。派遣先での共同研究により、北ヨーロッパでよく見られる繊維症 Dupuytren disease のゲノムワイド解析によって MT1-MMP の酵素活性ドメインに SNP 変異が頻繁に見られることを見出している。さらに、これらの SNP を持つヘテロ/ホモ患者の繊維芽細胞はどちらも酵素活性はあるものの、コラーゲン分解活性が低下することが明らかになっている。

派遣先では、主にこの MT1-MMP の SNP 変異体の機能解析を行なった。MT1-MMP の SNP 変異体に RFP を結合させたベクターを構築し、細胞にトランスフェクションし、ゼラチンの分解を評価することで、酵素活性に違いがないことを確認した。

また、MT1-MMP は細胞膜上で二量体を形成し、この二量体形成がコラーゲン分解活性に必須である。そこで、MT1-MMP の細胞内ドメインに NGF 受容体を持つコンストラクトを用い、MT1-MMP の WT と SNP 変異体が二量体形成するかどうかを NGFR のリン酸化でモニタリングを行なった。結果より WT と SNP 変異体は二量体を形成しており、SNP 変異体のドミナントネガティブ効果によってコラーゲン分解活性が低下していると考えられた。

また、酵素活性はあるものの、コラーゲン分解活性が低下するという事実から、この SNP によって生じる MT1-MMP の各ドメインの配向の変化がコラーゲン繊維を解くことを阻害している可能性が考えられている。MT1-MMP のドメイン間の配向はいまだ分かっていないため、TEM による構造解析を試みている。そのために、MT1-MMP の膜貫通ドメイン以外の部分を培地中に分泌する細胞から培養上清を回収し、クロマトグラフィーによってタンパク質精製を行なった。

6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

●研究成果発表

今回得られたデータは国際学術雑誌に投稿を予定している。

●今後の研究計画

今回の派遣によって、MT1-MMP SNP 変異体の酵素活性・コラーゲン分解活性に関して結果を得ることが出来た。今後は SNP 変異によって、細胞の運動能がどのように変化するかに関して検討を行なう。具体的には今回作成した MT1-MMP SNP 変異体に RFP を結合させたプラスミドを細胞に発現させ、派遣先の研究室で樹立されている Beads invasion assay や Timelapse 実験を行ない、野生型 MT1-MMP と比較することで SNP 変異体の運動能がどのように変化するか検証を行なう予定である。

同時に、MT1-MMP のドメイン間の配向を明らかにするために、今回精製したタンパク質に関して電子顕微鏡によって構造解析を行なう予定である。

これまで、MT1-MMP をはじめとする MMP の阻害剤は、特異性に欠く点や、多くの副作用によって臨床での応用が困難であった。本研究では、MT1-MMP SNP 変異体の構造に焦点を当て、コラーゲン分解活性の低下のメカニズムを明らかにすることで、Dupuytren disease をはじめ、MT1-MMP が関与するがんの浸潤やリウマチなど、多くの疾患への分子標的治療の開発が期待される。

7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

まず1つ目として、これまで所属してきた分野とは違う分野のラボで研究生活を経験することで、自分の知識や手技などがどれだけ通用するのか、または欠けているのかという点を客観的に理解することができた。私の場合はこれまで主に細胞の動きの解析やマウスなどの個体を扱う実験を中心に行なってきたが、今回、分子生物学という基礎の分野で研究を行うことができ、基礎知識の重要性を痛感した。

2つ目としては、海外での研究生活とはどのようなものかを具体的に知れた点である。研究所は日本と大きく異なり、4-6つのグループで1つのフロアを共有し、各ラボ間の交流も非常に盛んに行なわれていた。また、研究所ということで博士課程の学生が多く在籍していた。彼らは研究のみならず、経済や政治など広い知識をもち、さらに今後のキャリアに関しても明確なビジョンを持っており、大いに刺激を受けた。また、研究所の7割程度は中国・オランダ・イタリア・ドイツ・日本など様々な国からの研究員・学生で成り立っており、多様な考え方を理解し、それぞれを尊重するという雰囲気を感じた。

3つ目としては、海外で生活をスタートさせる際の一連の流れを理解できたことである。ビザや宿泊先の手配、派遣先の大学事務とのやりとり、現地では日用品の購入や公共交通機関の利用など、日本と違う点もあり苦勞することも多かった。このような経験は、ラボでの研究生活のみならず海外における生活そのものを体験できる貴重な機会になった。