

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

| | |
|------------|----------------------|
| 研究課題名 | 細胞膜メゾスケール構造構築とがん形成機構 |
| 研究機関・部局・職名 | 東京大学分子細胞生物学研究所 客員教授 |
| 氏名 | 末次 志郎 |

【研究目的】

細胞の表面には数十から数百 nm スケール (メゾスケール) の様々な微細形態が存在し、多様な機能を担っている。これらの細胞膜メゾスケール構造は、タンパク質数十から数百分子と脂質分子が集合して形成される。細胞膜メゾスケール構造は、正常な細胞機能を担うものだけでなく、神経突起やがん細胞の浸潤突起など疾患形成に深く関与するものを含み、ほぼすべての細胞機能に関わっている。

主要な疾患であるがんは、細胞膜メゾスケール構造の形成異常を伴い、がん細胞は正常細胞と異なる形態を持つが、その機能的意義はこれまで明らかにされてこなかった。従って細胞膜メゾスケール構造の形成機構および破綻機構の解明は、がんなどの疾患の治療法開発に役立つと期待される。

BAR タンパク質は、脂質膜の表面にポリマーを形成し、その BAR ドメインの立体構造を鋳型として脂質分子を集合させる形態形成を行う。BAR タンパク質は、クラスリン被覆小胞やカベオラなどの生命現象に不可欠なメゾスケール構造を試験管内で部分的に再構成することが可能である。BAR タンパク質の制御機構、すなわちメゾスケール構造の形成制御機構は正常な細胞の維持に必須であることが示唆されるが、その制御機構の実体は未だに不明である。また、BAR タンパク質の下流で機能するタンパク質には、リン酸化シグナルの制御下で細胞増殖やがん化に関与するものが多数含まれる。従って、BAR タンパク質が形成するメゾスケール構造は、がん細胞の増殖や浸潤に関わるシグナル伝達を制御している可能性があるが、その制御機構も不明である。

さらに、網羅的解析により未解明の多数の膜結合タンパク質が同定されつつあり、膜形態の多様な制御機構の存在が示唆される。また、これらの未解明の膜結合タンパク質の機能する細胞膜メゾスケール構造の解明が期待される。

本研究では、細胞膜メゾスケール構造構築を制御する BAR タンパク質を含むタンパク質因子を同定することを目的として研究を行った。これら因子の立体構造を解明し、3次元膜構造および3次元タンパク質局在と組み合わせることで、メゾスケール構造の分子構築を明らかにすることを目指した。さらに、この機構のがんなどの疾患形成に関わるシグナル伝達における役割を解明することを目指した。これらの研究は、細胞膜の形態に依拠した疾患の形成メカニズムを明らかにし、ライフ・イノベーションの推進に寄与すると期待された。

具体的な到達目標として、1) BAR タンパク質の機能およびその制御を、BAR ドメイン結合タンパク質の同定とそのタンパク質複合体の立体構造を基礎として明らかにし、細

胞膜のメゾスケール構造の制御機構と 3 次元構築を明らかにする、2) がん細胞のポドソームをモデルとして膜構造とチロシンリン酸化のシグナル伝達分子の 3 次元局在を解析し、BAR ドメインによって形成される膜構造のシグナル伝達における役割を解明する、3) 新規膜結合ドメインを同定し、機能する細胞膜メゾスケール構造を明らかにする、の 3 つについて研究を行った。

【総合評価】

| | |
|---|----------------|
| | 特に優れた成果が得られている |
| ○ | 優れた成果が得られている |
| | 一定の成果が得られている |
| | 十分な成果が得られていない |

【所見】

① 総合所見

BAR タンパク質の機能とその制御、がん細胞のポドソームをモデルとした膜構造とチロシンリン酸化シグナル分子の解析、新規膜結合ドメインの同定と機能する細胞膜メゾスケールの解明という 3 つの到達目標を掲げ研究を行った。

がん細胞の浸潤において BAR タンパク質と複合体を形成して機能していると思われるタンパク質や、がん細胞の増殖において BAR タンパク質と複合体を形成していると思われるタンパク質を同定した。また BAR タンパク質の一つの立体構造の解明に成功した。

ポドソーム解析が困難だったことからカベオリン解析に切り替えるなど、適切に軌道を修正し、その形態変化の超解像解析を行った。

新規脂質結合ドメインとしてアンキリンリピートドメインを同定した。ヒトにおいては TRPV のアンキリンリピートドメインの脂質結合能を立体構造解析により確定した。

全般的に研究は着実に進行したと思われる。目的としている細胞膜メゾスケール構造の制御機構の解明には遠いとの印象を受ける。がんとの関連については今後知見が得られれば研究分野や社会への波及効果も見られると思われる。TRPV のアンキリンリピートドメインに関する研究は大きな発展を見ており、今後の発展が期待される。発表論文は必ずしも多くないが、2014 年には英文一流誌に論文が掲載されるなど、成果が得られた。研究代表者は新しいポジションを得たことから、今後研究が発展することを期待したい。

② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

本研究課題において、膜構造に関与する BAR ドメイン結合タンパク質を同定し、とくに CIP4 に対して結合するタンパク質はがん細胞の浸潤・転移に関わることを見出した。また IRSp53 と N-WASP、VASP との協調作用を明らかにした。さらに IRSp53 が足場非依存性増殖に関わること、PACSIN2 のリン酸化がカベオラの陥入を制御することなどを明らかにした。caveolin-1 の超解像解析では電子顕微鏡によるカベオラの観察とよく一致することを確認した。新規脂質結合ドメインとして TRPV4 のアンキリンリピートが脂質結合

ドメインであることを発見、PIP2 の頭部との複合体の立体構造の解明に成功し、結合様式を決定した。

当初設定した3つの目標のうち、目標2についてはポドソームの解析が難航したためカベオリンの解析に切り替えているが、他の2つについては進捗が見られた。目的としている細胞膜メソスケール構造の制御機構の解明にはなお遠いとの印象を受けるが、がん細胞の浸潤、転移に関連する複数のBAR タンパク質を同定し、とくに IRSp53 が、がんの増殖・浸潤機序に重要な役割を果たすことを明らかにした。また、新規脂質結合ドメインとしてアンキリンリピートドメインの研究で進展が見られたことは特筆すべき成果と言える。当初の目標は全て達成された訳ではないが、着実に粘り強く研究を遂行している点は評価できる。今後の研究の発展に期待したい。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

IRSp53 の機能解析などに独自の発見がある。個々の分子構造の解明と超解像顕微鏡を用いた新技術の導入により、メソスケールの細胞動態が解明されることが今後期待される。目標3に掲げたアンキリンリピートドメインの研究では新たな展開を迎えた。立体構造の解明を行いつつ研究を進めている点で優位性が認められる。

細胞膜メソスケールの解明という点でのブレークスルーとなる成果が得られたとは現時点では言えない。

アンキリンリピートドメインの研究は目標3の一部ではあるが、当初の計画では想定しなかった成果と言える。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

関連分野においては波及効果があると思われる。とくに脂質膜結合タンパク質のスクリーニングを拡張することにより、生物学の新しい分野が開かれる可能性がある。

社会的な問題の解決という点ではすぐに波及効果があるとは思われない。しかし、BAR タンパク質の一つについては製薬企業との共同研究を開始しており、将来、社会的にも成果が還元されることを期待したい。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが（行われた ・ 行われなかった）

全般的には適切にマネジメントが行われているが、人員面で実施体制に不安があることが指摘され、対応の努力がなされた。大学院生が少ないことについては新たな所属施設（奈良先端科学技術大学院大学）で今後発展することを期待したい。

論文は着実に発表しており、2014年にはNature Communicationsに成果を発表した。まだ、研究途中段階の成果も数多く見られ、今後のさらなる努力に期待したい。社会への発信については、主に中高校生向けの講義を熱心に行った点は高く評価したい。