

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 30 年 4 月 25 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所 属 機 関・部 局 名 東北医科薬科大学・医学部皮膚科学教室
職 名 教授
研 究 代 表 者 名 岡 昌宏

下記のとおり平成29年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号:281013)

1. 共同利用研究 課題名	色素細胞悪性化における STAT3 の機能解析				
2. 共同利用研究 目的	細胞生物学, および生化学・分子生物学解析の実施				
3. 共同利用研究 期間	平成 29 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 年 3 月 31 日				
4. 共同利用研究組織					
氏 名	所属部局等		職名等		役 割 分 担
(研究代表者) 岡 昌宏	医学部皮膚科学教室		教授		研究統括
(分担研究者) 坂口 正展	医学部皮膚科学教室		講師		細胞生物学的解析
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル統合経路研究部 門・細胞増殖分化 制御研 究分野		氏 名	岩崎 哲史

※ 次の6, 7, 8の項目は, 枠幅を自由に変更できます。但し, 6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

皮膚の色素細胞ががん化したメラノーマは、増殖能や組織浸潤・転移能が高いことに加え、薬剤や放射線に対する耐性も高いことが知られ、分子標的治療薬の開発が極めて重要である。発がんプロモーターであるホルボー ルエステル 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (以下、TPA) は、正常色素細胞に対しては増殖を促進するが、メラノーマ細胞に対しては増殖を阻害するという相反するユニークな作用を有する。我々は、この作用の違いを分子レベルで理解することは、色素細胞がん化機構の解明のみならず、メラノーマに対する創薬や治療法の開発につながると思え、平成 28 年度から岩崎哲史助教とともに共同研究を行って来た。

これまでの研究の結果、TPA によるメラノーマの増殖阻害は、転写因子 Signal transducer and activator of transcription 3 (以下、STAT3) の脱リン酸化に依存することを見出した。次に、STAT3 を脱リン酸化するタンパク質チロシン脱リン酸化酵素の同定を目指して研究を行った結果、SH2-containing Protein Tyrosine Phosphatase 2 (SH-PTP2)、および T-cell protein tyrosine phosphatase (TC-PTP) が責任酵素である可能性が高まった。さらに脱リン酸化には 2 種類のタンパク質チロシン脱リン酸化酵素(ホスファターゼ)、SH2-containing protein tyrosine phosphatase 2 (以下、SH-PTP2) および T cell protein tyrosine phosphatase (以下、TC-PTP) が関与する可能性が高いことを明らかにした。

これらの研究結果を基盤とし、本研究は、上記の 2 つの STAT3 ホスファターゼについてさらに(1) 細胞周期における分子動態解析、(2) シグナル伝達分子との相互作用、(3) 翻訳後修飾の解析を行い、TPA によるメラノーマ増殖抑制の分子機構を明らかにすることを目的とした。

7. 共同利用研究の成果

平成 28 年度に TPA によるメラノーマ増殖抑制に重要な機能を担う 2 種類のチロシン脱リン酸化酵素(以下、ホスファターゼ) SH-PTP2 と TC-PTP を同定した。平成 29 年度はこれらホスファターゼのメラノーマ細胞における分子機能を解析した。まず RT-PCR 法を用いて SH-PTP2 と TC-PTP 遺伝子の分子クローニングを行った。得られた遺伝子をメラノーマ細胞株 WM1205 に導入して発現させ、フローサイトメトリー法を用いて細胞周期解析を行ったところ、SH-PTP2 発現細胞は細胞周期が G0/G1 期で停止することが明らかになった。一方 TC-PTP 発現細胞は、細胞周期への顕著な影響は観察されなかった。続いて STAT3 と SH-PTP2、および STAT3 と TC-PTP の相互作用を、共免疫沈降法を用いて解析した。その結果、SH-PTP2 は STAT3 splicing variant である STAT3 α との恒常的な結合が検出された。一方で TC-PTP と STAT3 の相互作用は見いだされなかった。さらに、分子クローニング実験の過程で得られた機能未知の TC-PTP アイソフォーム(TC-IN-PTP と命名)の解析も行った。TC-IN-PTP は、既知の TC-PTP の触媒領域に 23 アミノ酸の挿入があり、この挿入部位は TPA 依存的にリン酸化修飾を受ける可能性が高い。上述と同様に解析したところ、TC-IN-PTP 発現メラノーマ細胞は、細胞周期を停止する可能性が高いと考えられた。現在、これらのホスファターゼのより詳細な分子機構解明を行っており、平成 30 年度にはメラノーマ細胞の TPA による増殖抑制におけるホスファターゼの分子機能を明らかにする予定である。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

国際学会発表

一般講演

1. Iwasaki T, Yamauchi M, Fukumoto T, Zhu L, Itai A, Sakaguchi M, Nagano T, Kamada S, Oka M. Tyrosine phosphatase, TC-PTP and SH-PTP2 mediate dephosphorylation of STAT3 in TPA-induced growth inhibition of melanoma. 2017 International Pigment Cell Conference, August 26-30, 2017, Denver, USA (ポスター)
2. Onish M, Iwasaki T, Fukumoto T, Yamauchi M, Zhu L, Itai A, Sakaguchi M, Nagano T, Oka M, Kamada S. Functional characterization of phosphatases in TPA-induced growth inhibition of metastatic melanoma. ConBio2017 (2017 年度生命科学系学会合同年次大会)、2017 年 12 月 6-9 日、神戸。(ポスター)
3. Iwasaki T, Onish M, Fukumoto T, Yamauchi M, Zhu L, Itai A, Sakaguchi M, Nagano T, Kamada S, Oka M. TPA-induced growth arrest of malignant melanoma is mediated by tyrosine phosphatases, SH-PTP2 and TC-PTP. 日本研究皮膚科学会 第 42 回年次学術大会・総会、2017 年 12 月 15-17 日、高知。(ポスター)

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

該当なし