

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：32624

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18866

研究課題名(和文) TMEPAIファミリーによる悪性中皮腫進展抑制機構

研究課題名(英文) TMEPAI family inhibits proliferation of malignant mesothelioma cells.

研究代表者

中野 なおこ (Nakano, Naoko)

昭和薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：50733218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：悪性中皮腫細胞ではYAPシグナルとTGF-βシグナルが協調して細胞増殖促進に働いていると報告されている。私たちはTGF-βシグナルを抑制する分子TMEPAIファミリーによって、YAPシグナルも抑制できる可能性を見出した。また、TMEPAIファミリーとYAPがPYモチーフを介して結合することも見出した。また、TMEPAIファミリーによって細胞増殖が抑制されると示唆される結果を得た。

研究成果の概要(英文)：Integration between TGF-β and YAP signaling pathways has been reported in malignant mesothelioma (MM) cells. We found that YAP signal could be negatively controlled by TMEPAI family which we have already identified as a negative regulator of TGF-β signaling. In addition, we identified that the PY motifs in TMEPAI family play an important role in their interaction with YAP via its WW domains. We also found that TMEPAI family inhibits proliferation of MM cells.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：C18ORF1 YAP TMEPAI family Hippo pathway TGF-β signal

1. 研究開始当初の背景

申請者は TMEPAI ファミリーと名付けた TGF- β シグナル抑制分子 TMEPAI ファミリー (主に C18ORF1) が YAP によるルシフェラーゼ活性を抑制することを見出した。近年、YAP シグナルと TGF- β シグナルが悪性中皮腫細胞の増殖を促進していると報告されたため、TMEPAI ファミリーによって両シグナルを抑制し、悪性中皮腫の進展を抑制することを目的としている。

2. 研究の目的

悪性中皮腫は、アスベストの暴露が主な原因であり、日本における罹患数は 1980 年代前半には年間 100 人程度であったが、2000 年を過ぎると 1000 人に急増し、今後、日本の悪性中皮腫の罹患数及び死亡数はさらに増加することが予想される。現在、有効な治療法がなく、発症 2 年後の生存率は約 30%、発症 5 年後の生存率は約 4% となっており、今後、罹患数も増えると予想されていることから、有効な治療法が求められている。現在までに、悪性中皮腫細胞で細胞増殖を制御する Hippo シグナルの構成分子に変異や不活性化が報告されており、申請者は悪性中皮腫の進展に関与し、Hippo シグナルによってその機能が抑制されることが知られている YAP の活性を TMEPAI ファミリーが抑制する可能性を示唆していることから、TMEPAI ファミリーによって悪性中皮腫の進展を抑制することを目指す。

3. 研究の方法

TMEPAI ファミリー (主に C18ORF1) が YAP の活性を抑制することを YAP によって活性化されるレポーターを用いて検討した。また、C18ORF1 と YAP の結合部位を検討するために免疫沈降法により検討した。細胞の増殖能やコロニー形成能への C18ORF1 による影響を検討するために、悪性中皮腫細胞を用いてレンチウイルスにより C18ORF1 高発現細胞を樹立した。また、in vivo での腫瘍形成能を検討するために、ルシフェラーゼ遺伝子を導入した悪性中皮腫細胞に、C18ORF1 を高発現させ、ヌードマウスの胸膜に移植し、検討を行った。

4. 研究成果

C18ORF1 の PY モチーフと YAP の WW ドメインで結合することを見出した。また、C18ORF1 による YAP のルシフェラーゼ活性の抑制には C18ORF1 の PY モチーフが重要であり、YAP と結合することが必要であると示唆された。さらに、LATS2 による YAP のユビキチン化が C18ORF1 によって促進されると示唆する結果も得られている。現在、詳細なメカニズムを検討中である。in vitro の実験において、C18ORF1 を高発現させた悪性中皮腫細胞の増殖が、コントロールの細胞に比較して抑制されると示唆する結果も得られているが、さらに検討を行っている。さらに、ルシフェラー

ゼ遺伝子を導入した悪性中皮腫細胞に C18ORF1 を高発現させ、ヌードマウスの胸膜に移植し、現在、腫瘍形成の経過を観察している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Nakano N, Tsuchiya Y, Kako K, Umezaki K, Sano K, Ikeno S, Otsuka E, Shigeta M, Nakagawa A, Sakata N, Itoh F, Nakano Y, Iemura S, van Dinther M, Natsume T, ten Dijke P, Itoh S. TMED10 interferes with TGF- β signaling by disrupting TGF- β receptor complex formation. *J. Biol. Chem.*, **292**: 4099-4112 (2017) (査読有)
2. Nakano N, Kato M, Itoh S. Regulation of the TMEPAI promoter by TCF7L2: the C-terminal tail of TCF7L2 is essential to activate the TMEPAI gene. *J. Biochem.*, **159**: 27-30 (2016) (査読有)
3. Sakata N, Kaneko S, Ikeno S, Miura Y, Nakabayashi H, Dong X-Y, Dong J-T, Tamaoki T, Nakano N, Itoh S. TGF- β signaling cooperates with AT motif-binding factor-1 for repression of the -fetoprotein promoter. *J. Signal. Transduc.* **2014**: 970346 (2014) (査読有)
4. Nakano N, Maeyama K, Sakata N, Itoh F, Akatsu R, Nakata M, Katsu Y, Ikeno S, Vo Nguyen TT, Watanabe Y, Kato M, Itoh S. C18 ORF1: a novel negative regulator of TGF- β signaling. *J. Biol. Chem.*, **289**: 12680-12692 (2014) (査読有)

[学会発表](計 17 件)

1. 中野なおこ、土屋裕樹、加古拳朗、梅寄 乾隆、佐野圭吾、池野聡一、大塚愛理、中川愛、坂田宣夫、伊東史子、家村俊一郎、夏目徹、伊東進 TMED10 は TGF- β 受容体複合体形成を抑制し TGF- β シグナル伝達を阻害する **第 39 回日本分子生物学会年会**、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) 2016 年 11 月 30-12 月 2 日
2. 中野なおこ、服部隆行、内藤幹彦、伊東進 転写因子 YAP を標的としたプロテインノックダウン法の確立 **第 75 回日本癌学会学術総会**、パシフィコ横浜 (神奈

川島横浜市) 2016年10月6-8日

3. 伊東進、中野なおこ、佐野圭吾、葛祐妃、後瀬大樹、仲西盛史 TGF- β シグナルによるたばこ煙含有がん原物質の代謝的活性化に關与するチトクロームP-450 遺伝子発現制御メカニズムと肺がん進展抑制機構の解明 **喫煙科学研究財団平成27年度助成研究発表会**、京王プラザホテル(東京都新宿区) 2016年7月20日
4. 中野なおこ、正田卓司、服部隆行、栗原正明、内藤幹彦、伊東進 がん遺伝子YAPを標的としたプロテインノックダウン法の確立 **第20回日本がん分子標的治療学会学術集会**、別府国際コンベンションセンター(大分県別府市) 2016年5月30日-6月1日
5. Nakano N, Itoh F, Itoh S. TMED10 dissociates TGF- β receptor complex to inhibit TGF- β signal. **第74回日本癌学会学術総会**、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市) 2015年10月8-10日
6. 中野なおこ、伊東史子、渡邊幸秀、加藤光保、伊東進 TMEPAIファミリーによるTGF- β シグナル抑制機構 **第73回日本癌学会学術総会**、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市) 2014年10月25-27日
7. 中野なおこ、赤津凌介、中田美紀、伊東史子、坂田宜夫、葛祐妃、池野聡一、戸川陽子、伊東進 TMEPAIファミリーによるTGF- β シグナル制御機構 **第58回日本癌学会関東支部大会**、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
8. 赤津凌介、池野聡一、竹田哲也、中野なおこ、箕輪貴司、花方信孝、伊東史子、伊東進 PDZK1IP1によるTGF- β ファミリーシグナル伝達経路抑制機構 **第58回日本癌学会関東支部大会**、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
9. 坂田宜夫、金子哲士、池野聡一、三浦裕、中林秀和、Xue-Yuan Dong、Jin-Tang Dong、玉置大器、中野なおこ、伊東進 転写因子ATBF1とTGF- β シグナル伝達系による α -fetoprotein遺伝子プロモーターの協調的抑制、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
10. 葛祐妃、菊間美咲、大村佳織、高橋悠太、沼生智晴、福田真弓、中野なおこ、池野聡一、伊東進 TGF- β によるCYP1A1遺伝子発現抑制機構 **第58回日本癌学会関東支部大会**、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
11. 木村栄希、加古拳朗、大塚愛理、梅寄乾隆、土屋裕樹、中野なおこ、伊東進 TMED10によるTGF- β シグナル抑制機構の解析 **第58回日本癌学会関東支部大会**、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
12. 荻なつみ、竹本友里夏、中野なおこ、伊東進 TGF- β はA549細胞においてC/EBP β 及びSREBP-1の発現を誘導する **第58回日本癌学会関東支部大会**、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
13. 木村真央、柴宏子、中野なおこ、伊東進 TGF- β シグナル分子欠損マウス胎仔由来線維芽細胞MEFの機能解析 **第58回日本癌学会関東支部大会**、昭和薬科大学(東京都町田市) 2014年10月4日
14. 伊東進、池野聡一、中野なおこ、大村佳織、亀田洋子、毛利幸恵 タバコ含有がん原物質の代謝活性化を司るチトクロームP450遺伝子のTGF- β 依存的発現抑制機構と喫煙による肺がんリスク研究 **第29回平成25年度公益財団法人喫煙科学研究財団助成研究発表会**、京王プラザホテル(東京都新宿区) 2014年7月15日
15. Ikeno S, Takeda T, Ichikawa D, Nakano N, Minowa T, Hanagata N, Itoh F, Itoh S. Elucidation of the inhibitory mechanism of PDZK1IP1 against TGF- β /Smad signaling. **TGF- β Meeting in Leiden**, Leiden (The Netherlands) 2014年5月8-10日
16. Sakata N, Kaneko S, Ikeno S, Miura Y, Nakabayashi H, Dong X-Y, Dong J-T, Tamaki T, Nakano N, Itoh S. Negative regulation of α -fetoprotein gene transcription by TGF- β /Smad signaling with AT motif binding factor 1 (ATBF1). **TGF- β Meeting in Leiden**, Leiden, Leiden (The Netherlands) 2014年5月8-10日
17. Nakano N, Maeyama K, Sakata N, Itoh F, Akatsu R, Nakata M, Katsu Y, Ikeno S, Togawa Y, Vo Nguyen TT, Watanabe Y, Kato M, Itoh S. The functional relationship between C18ORF1 and TMEPAI in TGF- β /Smad signaling. **TGF- β Meeting in Leiden**, Leiden (The Netherlands) 2014年5月8-10日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

中野 なおこ (Nakano, Naoko)

昭和薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：50733218