

# TGF- $\beta$ シグナル伝達系の主要転写因子 SMAD2/3 による補因子選択機構 Cofactor selection mechanism of SMAD2/3 in TGF- $\beta$ signaling

宮園健一, 田之倉優\*

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻

養生訓を科学する医食農連携寄付講座, 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Laboratory of Basic Science on Healthy Longevity, Department of Applied Biological Chemistry,  
Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, 113-8657,  
Japan

## 1 はじめに

トランスフォーミンググロースファクター  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) は、細胞の様々な機能を調節する多機能性サイトカインであり、細胞の増殖・分化やアポトーシス、免疫、細胞外マトリックス生産等の制御を行っている。そのため、ひとたび TGF- $\beta$  シグナル伝達系に異常が生じると、ガンや繊維症といった重篤な疾病へとつながる。サイトカイン TGF- $\beta$  のシグナルを受け取った細胞は、細胞膜上においてそのシグナルを SMAD2 及び SMAD3 (SMAD2/3) と呼ばれる転写因子のリン酸化へと変換する。リン酸化された SMAD2/3 は、SMAD4 とヘテロ 3 量体を形成し核内へ移行し、様々な遺伝子発現の制御を行う。

SMAD2/3 は、DNA 結合性の N 末端側 MH1 ドメインと、他分子との複合体形成に関与する C 末端側 MH2 ドメインからなるマルチドメインタンパク質である。リン酸化された SMAD2/3 は、その MH2 ドメインを利用し、SMAD4 や他の多くの補因子と転写因子複合体を形成することが知られている。TGF- $\beta$  シグナルの多機能性は、この SMAD2/3 に結合する補因子の多様性と大きく関係している。

SMAD2/3 に結合する補因子は多数知られており、これまでに、転写因子 FOXH1、転写抑制因子 SKI、SMAD2/3 リン酸化促進因子 SARA をはじめ、多数のタンパク質が特異的に結合することが明らかにされている。これらの補因子の多くは、特有の SMAD2/3 結合モチーフを持たないという特徴を有しており、なぜ多くの補因子が SMAD2/3 の MH2 ドメインに対し特異的に結合できるかは不明であった。そこで本研究では、SMAD3-FOXH1 複合体及び SMAD2-SKI 複合体の X 線結晶構造解析を通じて、SMAD2/3 による補因子選択機構を明らかにしようと試みた。

## 2 実験

ヒト由来 SMAD2/3 およびその補因子 FOXH1 及び SKI を大腸菌の異種タンパク質発現系を利用して大量調製した。得られたタンパク質を用い、SMAD3-FOXH1 複合体及び SMAD2-SKI 複合体を調製し結晶

化を行った。その結果、SMAD3-FOXH1 複合体は、エチレンイミンポリマーを沈殿剤とする条件で、SMAD2-SKI 複合体はギ酸ナトリウムを沈殿剤とする条件で結晶を得ることに成功した。得られた結晶を用い、AR-NE3A ビームラインにて X 線回折実験を行ったところ、SMAD3-FOXH1 複合体結晶から 2.4 Å 分解能のデータを、SMAD2-SKI 複合体からは 1.85 Å 分解能のデータを得ることに成功した。得られたデータと、すでに構造が既知であった SMAD2/3 単独構造の座標情報を用い、分子置換法で SMAD3-FOXH1 複合体および SMAD2-SKI 複合体の構造を決定した。

## 3 結果および考察

これまでの研究では、SMAD2/3 に結合するすべての補因子は、すでに構造が既知であった SMAD2/3-SARA 複合体と同様の構造基盤で SMAD2/3 に対し結合すると予想されていた。しかしながら、SMAD3-FOXH1 複合体および SMAD2-SKI 複合体の構造解析の結果、FOXH1 や SKI は SARA とは全く異なる構造基盤を用いて SMAD2/3 の MH2 ドメインに対し結合することが明らかになった (図 1)。

SMAD3-FOXH1 複合体および SMAD2-SKI 複合体の構造を、既知であった SMAD2/3-SARA 複合体の構造と比較すると、SMAD2/3 の MH2 ドメイン上には複数の疎水性パッチが存在しており、各補因子は、それらの疎水性パッチの一つないし複数を連結する

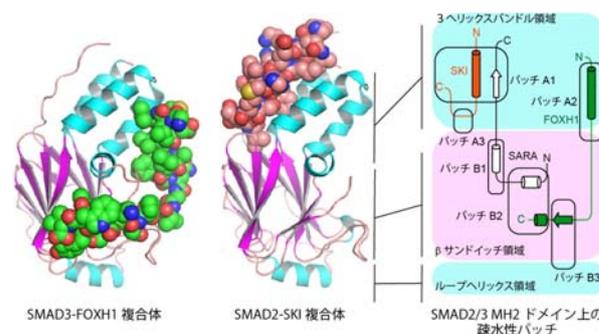


図 1 : SMAD2/3-補因子複合体の結晶構造と SMAD2/3 MH2 ドメイン上の疎水性パッチ

ことにより、SMAD2/3 に対し結合することが示唆された (図 1)。このようなモデルを考えることにより、様々な補因子による SMAD2/3 に対する共同的な結合や競合、また結合する分子数など、今まで説明することができなかった多様な分子機構を説明できるようになった。

#### 4 まとめ

細胞の様々な機能を調節するサイトカイン TGF- $\beta$  の多機能性は、そのシグナル伝達系の中心的な転写因子に結合する補因子の多様性と大きく関係している。本研究では、SMAD2/3-補因子複合体の構造解析を通じて、SMAD2/3 による多数の補因子との特異的な結合を可能とする新たなモデルを提示することができた。前述の通り、TGF- $\beta$  シグナル伝達系の機能不全は、ガンや繊維症といった重篤な疾病と関係する。今回明らかになった SMAD2/3 による補因子結合機構を基に、SMAD2/3 と特定の補因子間の相互作用を阻害するようなタンパク質間相互作用阻害薬を開発することができれば、ガンや繊維症の新たな治療薬となる可能性が期待される。

#### 謝辞

X 線回折実験を行うにあたり、ご協力くださった Photon Factory のスタッフの方々に深くお礼申し上げます。

#### 成果

1. Miyazono K, et al. Hydrophobic patches on SMAD2 and SMAD3 determine selective binding to cofactors. *Sci Signal*, **11**, eaao7227 (2018).

\* amtanok@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp