

中谷アドバンスプログラム参加報告書

東京大学医学部医学科 2 年 安田百合香

ホストラボ：UC Davis, Biomedical Engineering, Prof. Soichiro Yamada

期間：2025 年 1 月 14 日～2025 年 3 月 24 日

(途中、2 月 2 日～2 月 25 日で一時帰国、渡印を挟む)

1. インターン先での研究内容

① 概要

Yamada Lab はメカノバイオロジーの研究をしている研究室です。私は今回、過去の ARIP 参加者が携わっていたプロジェクトを引き継ぎ、KANK1 という分子に関してその力覚応答を調べる研究を行いました。

② 背景

生体内において、細胞は周囲環境からの影響や自律的な変化に絶えず晒されています。この影響の一つに機械的刺激（力）があり、細胞はこれを感じ応答する独自の機構を備えています。感知された機械的刺激は、細胞内で生化学的シグナルへと変換され（メカノトランスダクション）、細胞の形態や機能、増殖、分化などの多様な細胞応答を誘導します。例えば、基質の弾性は間葉系幹細胞の分化方向の決定に関与することが知られています (Discher et al., 2006)。また、正常な細胞の増殖や組織の形成は周囲の力学的環境に厳密に制御されている一方で、がん細胞は硬い腫瘍微小環境に適応し、増殖や転移を活性化させる特性を持ちます。したがって、メカノトランスダクション機構の理解は、細胞への力学的刺激とがんなどの疾患との関連性を解明する上で重要です。しかし、メカノトランスダクションにどのような分子が、どのようなメカニズムで関与しているのかは、まだ十分に解明されていません。

Yamada Lab では、細胞骨格、特にアクチンフィラメントに着目して研究が行われています。私は、Yamada Lab で TurboID 法を用いて同定されていた F-tractin 近傍タンパク質の中で、特に高いスコアで同定されていた KANK1 という分子の、機械的刺激に対する細胞内局在変化を調べました。

この先行研究では、TurboID 法という、近位依存性ビオチン化酵素 TurboID を利用して約 10 nm 以内の近接したタンパク質のリジン残基を非選択的にビオチン化する手法が用いられました。MDCK GII 細胞において F-tractin 近傍のビオチン化タンパク質が質量分析により網羅的に同定され、KANK1

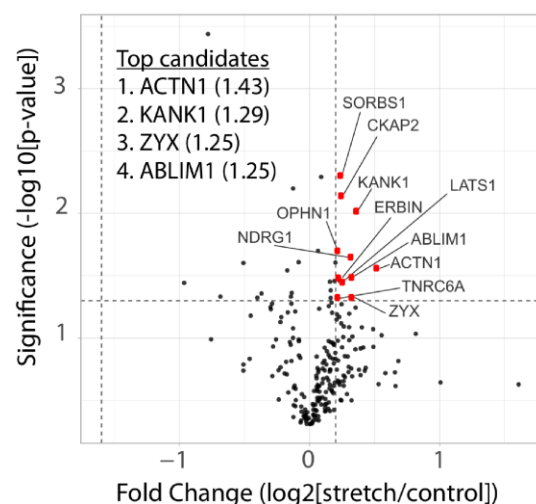


Fig.1 Mass spectrometry analysis of TurboID-tagged F-tractin

は2番目の候補タンパク質として同定されていました。

1番目の候補タンパク質として同定されていた ACTN1 はアクチン架橋タンパク質であり、アクチンストレスファイバーの主要な構成要素であることが知られています (Cheah JS et al., 2021)。一方 KANK1 は、KANK1 は腎細胞がんの腫瘍抑制遺伝子として発見され (Sarkar S et al., 2002)、多くのがんで欠失や発現低下が確認されているほか (An HX et al., 1999; Sato M et al., 2005)、自閉症モデルマウスにおける発現変動 (Platt RJ et al., 2017) など報告されていますが、そのメカノセンサーとしての機能はこれまで報告されていませんでした。そこで私は、KANK1 とメカノセンシングの関連性を探るため、細胞に伸張刺激を与え、力によって誘導される KANK1 の細胞内局在変化を観る研究を行いました。

③ 方法

細胞伸張時の KANK1 の局在を観察するため、蛍光標識された KANK1 を発現するプラスミドを MDCK GII 細胞に導入しました。そして、マイクロニードルを用いて細胞に伸張刺激を与え、その際の KANK1 の細胞内局在変化を共焦点顕微鏡でタイムラプス撮影する実験を行いました。

この実験では、Joystick を手動で操作してマイクロニードルを

動かしますが、目的の細胞に隣接する細胞をマイクロニードルで引っ張ることにより、標的細胞を直接損傷させることなく力学的刺激を与えることができます。

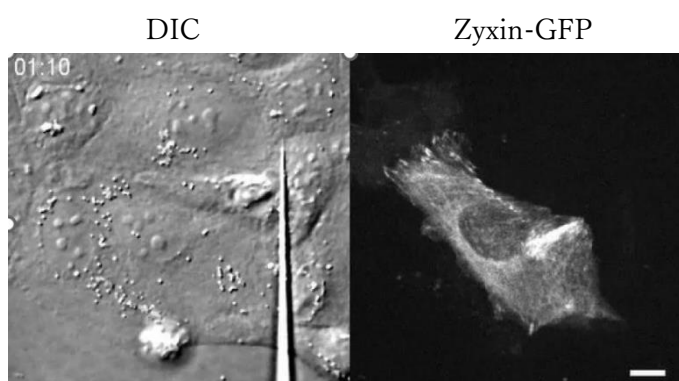


Fig. 2 マイクロニードルによる細胞伸張の様子 (Cheah et al., 2021)

④ 結果・考察

KANK1 と ZYN の局在

細胞伸張時の KANK1 の局在とアクチンフィラメントとの関係性を調べるため、GFP-KANK1 とアクチンストレスファイバーのマーカーである mScarlet-Zyxin を細胞に共発現させました。

伸張刺激下でタイムラプス観察を行ったところ、KANK1 と Zyxin はともに線維状構造に局在しましたが、両者は明瞭には共局在しませんでした。この結果は、KANK1 とアクチンフィラメントとの直接的な関連

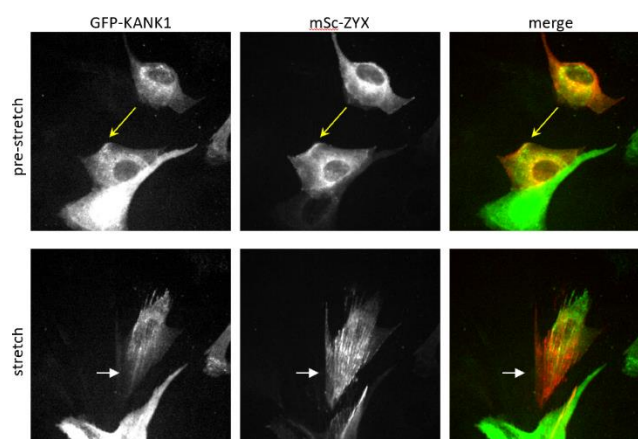


Fig. 1 KANK1 と ZYN の局在

性を示唆するものではありませんでした。

一方、KANK1 の示す線維状構造がケラチンフィラメントの形態に類似していたため、次にケラチンフィラメントとの相互作用が知られる Cten との共局在を調べる実験を行いました。

KANK1 と Cten の局在

細胞伸張時の KANK1 の局在、特にケラチンフィラメントとの関係性を調べるため、GFP-KANK1 とケラチンフィラメントとの相互作用が知られる mScarlet-Cten を細胞に共発現させました。

細胞に伸張刺激を与えたところ、KANK1 と Cten はともに線維状の局在を示し、それらは、アクチンフィラメントのマーカーである Zyxin との場合よりも一致しているように見えました。しかし、両者の局在は線維全体で完全に一致するわけ

ではありませんでした。このことから、KANK1 の局在はケラチンフィラメントに限定されるのではなく、他の分子との複合的な制御を受けている可能性が示唆されました。

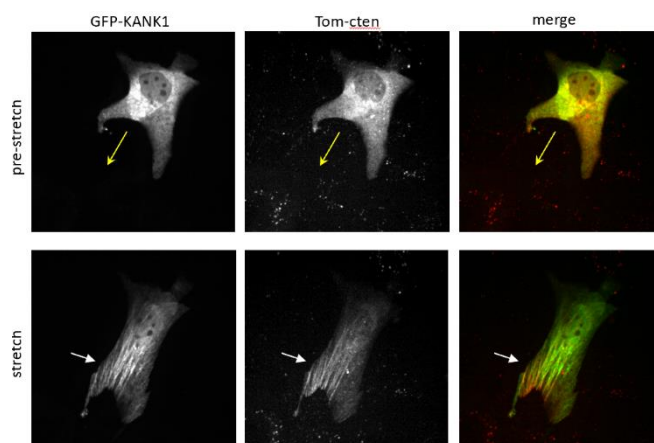


Fig. 2 KANK1 と Cten の局在

これら 2 つの実験結果より、KANK1 は細胞伸張時にアクチンフィラメントへ特異的に集積するとは断定できませんでした。一方、ケラチンフィラメントのマーカーである Cten との共局在が一部で確認されたことから、KANK1 はケラチンフィラメントとの相互作用を持つ可能性が示唆されました。これらは、KANK1 が単一の細胞骨格系ではなく、複数の細胞骨格系に対して機能を持つ可能性を示しました。

KANK1 のメカノセンサー機能に必要なアミノ酸領域の絞り込み

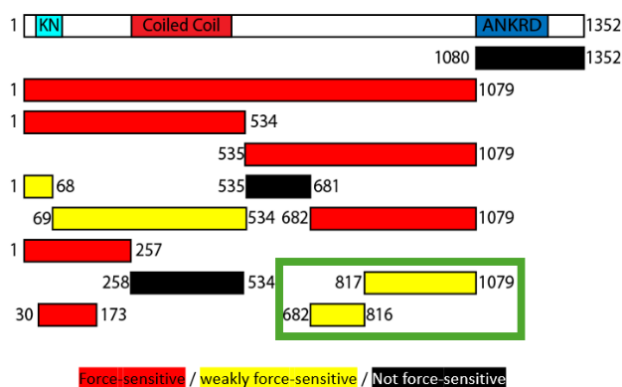


Fig. 5 KANK1 各変異体のアミノ酸領域およびそのメカノセンサー機能の程度

次に、KANK1 がメカノセンサーとして機能するために必須なアミノ酸領域の特定を試みました。私は、Yamada Lab の過去メンバーの実験で示唆されていた候補領域を絞り込むため、彼らが作製したコンストラクトを引き継ぎ、新たに複数の欠失変異体を作製しました。

この実験では、KANK1 の目的のアミノ酸配列のみを組み込んだ GFP タグ付きプラスミドを作製し、上記と同様にマイクロニードルを用いて細胞を伸張し、各 KANK1 変異体の局在変化を観察しました。

過去の実験から、KANK1 は N 末端側と C 末端側にそれぞれメカノセンサー候補領域が存在することが示唆されていました。特に C 末端側に関しては、682-816 番目と 817-1079 番目のアミノ酸配列をもつ KANK1 変異体は力覚応答が弱いという結果が得られていました。そこで私は、応答を保持しつつ、より短いアミノ酸配列となるように領域を絞り込んで新たな欠失変異体を作製し、実験を行いました。

その結果、804-892 番目のアミノ酸配列を持つ欠失変異体が、機械的刺激に応答する最小候補領域の一つであることが確認されました。

今回の研究から、KANK1 がメカノセンサータンパク質として機能し、アクチンおよびケラチンフィラメントの双方と相互作用する可能性が示唆されました。この応答には、KANK1 が持つ複数の機能領域、特に 30-173 番目と 804-892 番目のアミノ酸領域が関与していると考えられます。一方、今回同定した領域がどのような分子機序を働かせて機械的刺激に応答し、シグナル伝達に繋がるのかは未だ明らかになっていません。また、伸張刺激を与えていない状態でも、KANK1 の変異体によってその細胞内局在が異なることも確認しており、そもそも KANK1 が細胞内でどのように働く分子なのかという本質的な機能も未解明です。

ARIP 期間の終盤では、細胞の透過処理によるクリアなイメージングを試みたものの条件検討を終えるまでには至らなかったため、今後はこの手法を確立し、細胞骨格とのより詳細な局在関係を調べることが求められます。

2. アドバンストプログラムで得たもの・考えたこと

① 研究面での成長と学び

昨夏に RIES に参加させていただいたときは、メンターが説明して下さることが私にとって新しいことばかりで、情報をキャッチアップすることに多くのエネルギーを割いていました。それに比べて ARIP では、RIES 参加時よりは多少の知識と経験のある状態で参加できたので、目の前のことだけで精一杯にならず、もう少し全体像を見て研究を進めることができたように思います。1つの実験を行った先に何があるのか、どのような結果が考え得るのか、その先の実験を進めるためにはどのようにスケジュールを組めば良いのかなど、基本的なことでありますが、RIES の時にはメンターに全て導いていただいたことも、ARIP では自分自身で主体的に進めることができました。



Yamada Lab。この広い空間を3人のメンバーで贅沢に使っていました。

この成長は、2度目の研究インターンの機会をいただけたからこそ得られたものであり、RIES での他の JP Fellow の姿に刺激を受けて ARIP に応募することを決めた私の動機にも繋がるものでした。その点において期待していた経験を得ることができ、ARIP に参加させていただいたことの意義を強く感じています。

一方、研究の過程では、私自身の時間の見積もりが甘かった故に予定していた実験ができなかったり、データのまとめを怠っていた故にミーティングでのプレゼンテーション準備が必要以上に大変になってしまったり反省すべきことも多く、自身の弱みであるマネジメント能力を向上させる必要性を痛感しました。その都度 Yamada 先生や PhD 生の Dah Som からご指摘やアドバイスをいただき、多くのことを学ぶ機会になりました。未熟な私に対し、手厚い指導をしてくださったお二人には大変感謝しております。

また、知識面での引き出しの少なさも感じました。例えば、Yamada 先生と私では、同じイメージングを観た際に受け取れる情報量や考察の深さに大きな差があることを感じました。この差は、一朝一夕で埋まるものではなく、日々の積み重ねである知識と経験の差であると思います。Yamada 先生のそばで研究させていただく中で、常に知識を増やすことや、深く考えることをやめない姿勢など、多くのことを学ぶことができました。PI から直接指導を受けるという貴重な機会に恵まれたことは、大きな財産であると感じています。

② 環境に対する考え

RIES は私にとって初めての留学でしたので、Georgia Tech の研究室をアメリカの研究室として、Atlanta での生活をアメリカの生活として大きく捉えていた気がします。しかし、ARIP で2度目の留学をさせていただき、Gatech と UCD、それらが位置している Atlanta と Davis を知ったことで、より多角的な視点や認識を得られたと感じています。日米のシステム上の違いに起因する差異はあれども、結局のところラボ間の違いが大きく、したがって進路などを検討する際は国や大学といった枠組み以上にラボ単位で考えたいと思いました。

例えば、私は RIES の報告書にて、Gatech のオープンラボについて記しました。ただしアメリカの全てのラボがそのような訳ではありません。また、私の所属大学とアメリカの大学の研究室を比較すると、平均的なラボのサイズは日本の所属大学の方が大きいものの、日本の大学でよく見られるピラミッド構造で区分できるグループを考慮すると実質的なグループ構成員数はあまり変わらないかもしれません。一般論のメリットデメリットではなく、私自身がどのような性質をもったラボに身を置きたいのか、キャリアやライフステージに応じて私自身が最も成長できる場所はどこであるのか、という自分自身の視点で考えることの重要性に気づかされました。

場所による環境の違いは、生活に関しても同様です。RIES と ARIP でアメリカの2都市を訪問する機会をいただきましたが、Gatechh が位置する Georgia 州の Atlanta と UCD が位置する California 州の Davis は同じ国でもかなり異なる場所であるということを実感しました。



Department office には時折 free food が置いてあり、みんなで喜んでいただいていたいました。



朝のキャンパス内。私も Yamada 先生から自転車をお借りし、他の学生同様自転車通学をしていました。

Gatech が都会の中にある大学のという印象だったのに対し、UCD は大学が街を形成するカレッジタウンでした。Davis に住む人の多くが学校関係者なのではないかと思ってしまうほどに若者が多く、学校と飲食街と住宅街によってほぼ1つの街が形作られていました。また、Davis は自転車の街であり、車がなくても自転車一台で移動が可能だという利便性もあり、治安が良いので暗い時間に学生が一人で出歩いていてもさほど問題はあ

りませんでした。キャンパス構内に多くの emergency button が設置されていた Gatech とは異なり、平和でゆったりとした空気が流れているように感じました。

また、アパートが多かった Gatech 周辺と異なり、UCD 周辺は平屋の一軒家が中心で、私も ARIP 期間中は庭付きの一軒家シェアハウスに滞在させていただきました。シェアハウスの同居人とは朝や夕方にお話できるタイミングもあり、研究の相談に乗っていただいたり観光のお話をしたりととても良くしていただいて、家での時間も楽しいものとなりました。私は日本でもシェアハウスに入居していますが、同じシェアハウスでも部屋のサイズや入居者のライフスタイルにより違いがあることを感じつつ、やはり私自身はシェアハウスという形を心地良く感じることを確認できました。この経験を通じて、例えば海外 PhD に進学することになる際には、街の雰囲気や大学の立地といった「外部の生活環境」だけでなく、居住形態や同居人といった「内部の生活環境」にも拘ることが、QOL に影響するという新しい気づきがありました。

③ 新しい場所で生活を組み立てる経験

12 人の仲間と一緒に行動を共にした RIES とは異なり、ARIP は 1 人での留学でした。ラボ時間以外は完全にフリーであり、自ら行動を起こさなければ何も始まらない状況は、大学入学後ほとんど経験したことがなかったため、当初は戸惑いと焦りも感じました。非日常的なイベントに溢れていた RIES と異なり、ARIP では自然と（拍子抜けするほどあっさりと）日常が始まったため、その日常を非日常に変えたいという気持ちが生じたのだと思います。些細なことでも変化を求める生活を意識することで状況は好転していきましたが、このような意識をもつのは初めての経験であり、新しい場所で生活を組み立てるとはこういうことかと実感しました。



一方、このように生活の中に余白があることが、一つのことに集中しやすい環境を生み出すという可能性にも気づかされました。日本と比べて留学先で出会った人は（Yamada 先生含め）カレンダーや時計をあまり見ておらず、余裕があるように感じました。この経験は、旅行先ではなく生活拠点としての場所をどのように選択するかを考える上での視点を与えてくれたように思います。

週末には、近所の公園で farmers' market が開かれていました。

④ ひととの出会い

ARIP 期間中、たくさんの出会いに恵まれました。

渡航前から留学期間中を通してお世話になった Yamada 先生からは、特に多くのことを学ばせていただきました。Yamada 先生はご自身で実験なさる PI であり、研究に関することは全て直接教えていただくことができました。ラボにおいて PI から直接指導を受ける機会は多くない中、このような貴重な経験に恵まれたことは大きな財産だと感じています。目の前の現象に対し純粋な好奇心をもち、「面白い」と思うことの追究を続ける Yamada 先生の姿勢は印象的で、研究者としての本質的なあり方について気づかされました。



Yamada Lab メンバーでの最後の食事

また、Bay Area に滞在する日本人 PhD 生や研究者、臨床医の方々にも沢山お話を伺うことができました。昨年の RIES では、主に PhD 生にお話を伺っていましたが、ARIP ではキャリアのさらに先に行くポスドク研究者や PI、臨床医の方々にも積極的に話を聞くように心がけました。(これは Yamada 先生の後押しがあって実現した行動であり、感謝しております。)その結果、将来に対する解像度を大きく高めることができました。様々なキャリアパスを持つ方々の n=1 のストーリーに触れることで、自分の中の可能性が広がるのを感じると同時に、「では、自分はどうしたいのだろうか?」という問いを繰り返し、自己と向き合うきっかけになったと考えています。

3. 本プログラムへの参加の成果・意義

ARIP は、ここでは語り尽くせない多くの経験をさせていただきましたが、総括すると「自分目線」を養う機会になったと考えています。

留学により得られた様々な発見を踏まえて、それでは自分自身はどのような選択をしたいのかという問いについて深く考えることができました。例えば、将来 PhD に進学したいと考えた時、どのような要素に価値を置いて選択したいのか、するべきか。そんなことを考えるのは至極当たり前のことではありますが、この ARIP 期間、自分自身と向き合うことで、よりフラットな視点でキャリアを選択するための材料を得られた気がしています。ARIP 期間中、自分から動いてみたからこそ、与えられたこの機会を、自分自身の経験として上書きすることができたように思います。

私の大学 2 年生を語る上で欠かせない RIES と ARIP の 2 度の留学経験は、非連続的な成長をもたらし、将来の選択肢を広げてくれる大きな気づきを与えてくれました。こ

れら RIES と ARIP の経験は既に私の人生に十分に良い影響を与えてくれていますが、楽しかった思い出としてだけでなく、今後の私の人生においてステップアップのために必要不可欠な要素だったと後々に振り返られるように、そして、まだ何者でもない私をこの貴重な経験へと導いてくださった中谷財団への恩返しにできるように、これからの人生を歩んでいきたいと考えています。

4. 謝辞

最後になりましたが、私の 2 回の留学を支えてくださった中谷財団はじめ関係者の皆様、特に小川様と藤川様に感謝いたします。RIES と ARIP という 2 回の渡航という大きなプログラムを終えてもなお、中谷 RIES を通して得られた先輩や同期（今後は後輩も）の繋がりは続きますし、今後も変わらず関わらせていただく機会があることを大変ありがたく感じております。

ARIP 期間中は、Davis への派遣としては一人でしたが、他の場所で挑戦している ARIP の仲間たちの存在は、私にとって心の支えでした。彼らが頑張っていると思うだけでエネルギーが湧いてきましたし、実際に連絡を取り合ったり、Zoom で話したりすることが非常に刺激となっていました。

RIES への参加を通して彼ら仲間に出会えたことは、かけがえのない財産です。



中谷財団の小川さんに連れて行っていただいた
Lake Tahoe にて

そして、UC Davis のラボでお世話になった Yamada 先生と Dah Som にも改めて感謝申し上げます。未熟な私を根気強く教えてくださり、研究に限らず様々な点で貴重な気づきを与えてくださりました。

また、ARIP 期間中に会ってくださった方々にこの場を借りて感謝申し上げます。留学中にお話させていただいた方々は、見ず知らずの私に親身に尽くしてくださる Giver でした。私は、ただ与えられるばかりの自分に気づくたびに、いつか私も彼らのように、いただいた恩を次へと繋いでいける存在になりたいと強く思いました。

そのほか、関わってくださった全ての方々に深くお礼申し上げます。

この中谷財団国際学生交流プログラム助成が今後も続き、夢を掴もうと努力している日本の学部生に大きなチャンスが与えられることを強く願っています。