Science
Signaling
2023 Issue
Japanese Scientists in *Science Signaling* 2022
シグナリングに載った
日本人研究者
COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science
Science Signaling
AAAS

このJapanese Scientists in *Science Signaling* 2022では、2022年の1年間に*Science Signaling*に論文が掲載された日本人研究者・グループを紹介しています。誌面の都合上、または著者本人のご意向により、すべての日本人著者を紹介しているわけではありませんが、その旨ご了承ください。

所属名、共著者名、本文から図表の選定まで、すべて著者の皆様からご提供いただいたものです。特に、掲載論文については、日本語で分かりやすくご解説いただいておりますので、*Science Signaling*に掲載された図表とは異なるものを使用している場合があります。また、記載の所属先やメールアドレス、URLなど一切の情報は、2023年1月時点のものになります。

内容については細心の注意を払っていますが、情報の正確性、専門性について発行者はいかなる責任を負うものではありません。正確な情報は、必ず原文にてご確認ください。

発行元

American Association for the Advancement of Science (AAAS)
1200 New York Avenue, NW
Washington, DC 20005
USA

協　賛

コスモ・バイオ株式会社
〒135-0016 東京都江東区東陽2-2-20 東陽駅前ビル
TEL: 03-5632-9610　FAX: 03-5632-9619
https://www.cosmobio.co.jp

企画・翻訳・編集

株式会社アスカコーポレーション/Science Japan Office
〒541-0046 大阪市中央区平野町1-8-13 平野町八千代ビル
TEL: 06-6202-6272　FAX: 06-6202-6271
http://www.asca-co.com

表紙デザイン

株式会社 大伸社コミュニケーションデザイン
〒150-0001 東京都渋谷区神宮前2-4-11 Daiwa神宮前ビル1F･2F
TEL: 03-6863-3500　FAX: 03-6682-4375
https://www.daishinsha-cd.jp/

発行日

2023年3月

©2023 American Association for the Advancement of Science (AAAS). All Rights Reserved.

Science Signaling

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2022

シグナリングに載った日本人研究者

ご挨拶

*Science Signaling*は、米国科学振興協会(AAAS)の公式刊行物として1999年に創刊され、以降シグナル伝達分野の最新情報を毎週お届けしています。シグナル伝達ネットワークに直接関係するものだけでなく、システム生物学、合成生物学、調節経路、創薬など、広範なトピックを網羅しています。このため、シグナル伝達を専門とする研究者の方々はもとより、この分野に興味を持たれたあらゆる分野の研究者、教員、学生の皆様に、貴重な情報源としてご活用いただいています。

*Science Signaling*には、研究成果についての最新情報だけでなく、オンラインジャーナルとしての特性を活かし、教育のための資材やツールも提供しています。細胞シグナリングというダイナミックな分野における画期的な研究と解説のための最新リソースを研究者に提供します。基礎科学から治療法の設計、そして分子からネットワークやシステム設計まで、この電子版は、研究者、教職員、学生に最新情報を提供しています。

この冊子には、2022年に*Science Signaling*で発表された11件の研究を紹介させていただきました。日本語によるアブストラクトと、各論文の著者の方々より寄稿いただいた研究の論点をわかりやすく記した解説文を掲載しています。

本誌は大学等研究機関図書館のほか、国内のスーパーサイエンスハイスクールに配布されています。未来の日本の科学界を担う学生・生徒の教育にも活用していただくことを目的としています。

最後に、本誌の制作にあたり、ご多忙の中、ご協力いただきました日本人研究者の皆様に心より御礼申し上げます。そして、多大なるご支援を賜りましたコスモ・バイオ株式会社様に深く感謝を申し上げます。

2023年3月
編集チーム一同

Publish your research in the *Science* family of journals
The *Science* family of journals (*Science, Science Advances, Science Immunology, Science Robotics, Science Signaling*, and *Science Translational Medicine)* are among the most highly-regarded journals in the world for quality and selectivity. Our peer-reviewed journals are committed to publishing cutting-edge research, incisive scientific commentary, and insights on what's important to the scientific world at the highest standards.
Submit your research today!
Learn more at **Science.org/journals**
Science
JOURNALS AAAS

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2022

シグナリングに載った日本人研究者

1月11日号
RESEARCH ARTICLE

プリン作動性$P2Y_6$受容体のレドックス依存性内在化によって大腸炎の進行が抑えられる …… 6

Redox-dependent internalization of the purinergic $P2Y_6$ receptor limits colitis progression

九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野 講師 西山 和宏
九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野 教授 西田 基宏

1月25日号
RESEARCH ARTICLE

アダプタータンパク質SH2B1とホスファターゼPTP4A1はサイトヘジン2のリン酸化を調節することでマウスにおけるシュワン細胞による髄鞘化を促進する …… 8

The adaptor SH2B1 and the phosphatase PTP4A1 regulate the phosphorylation of cytohesin-2 in myelinating Schwann cells in mice

東京薬科大学 生命科学部 分子神経科学研究室 教授 山内 淳司
国立成育医療研究センター 薬剤治療研究部 分子薬理研究室 上級研究員 宮本 幸

2月8日号
RESEARCH ARTICLE

ナノディスク中のヒトpannexin-1の構造が示すN末端とリン脂質の動的な動きによって調節されるゲートの開閉 …… 10

Structures of human pannexin-1 in nanodiscs reveal gating mediated by dynamic movement of the N terminus and phospholipids

名古屋大学 細胞生理学研究センター 教授
名古屋大学大学院 創薬科学研究科 教授(兼任)
名古屋大学 糖鎖生命コア研究所 教授(兼任) 大嶋 篤典

3月1日号
RESEARCH ARTICLE

抑制性共受容体CD22は*Cd45*欠損免疫不全B細胞を分化過程で調節することによりB細胞シグナル伝達を回復させる …… 12

The inhibitory coreceptor CD22 restores B cell signaling by developmentally regulating *Cd45*$^{-/-}$ immunodeficient B cells

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野 教授
(現 日本大学歯学部 病理学講座 客員教授) 鍔田 武志
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野 助教 赤津 ちづる

3月8日号
RESEARCH ARTICLE

LPS誘発ALI/ARDSの発症機序における
Mer阻害の炎症反応抑制効果 …… 14

The suppressive effects of Mer inhibition on inflammatory responses in the pathogenesis of LPS-induced ALI/ARDS

福島県立医科大学 血液内科学講座 助手 深津 真彦
福島県立医科大学 血液内科学講座 准教授(現 博士研究員) 大河原 浩
福島県立医科大学 血液内科学講座 助教(現 呼吸器内科学講座 博士研究員) 王 新涛

4月12日号
RESEARCH ARTICLE

サイクリンJ-CDK複合体はマクロファージの代謝の
炎症性変化を抑制することで自然免疫応答を制限する …… 16

Cyclin J-CDK complexes limit innate immune responses by reducing proinflammatory changes in macrophage metabolism

京都大学大学院 医学研究科 医学専攻分子生体統御学講座 医化学分野 教授 竹内 理
京都大学大学院 医学研究科 医学専攻分子生体統御学講座 医化学分野 博士研究員 Yee Kien Chong

8月9日号
RESEARCH RESOURCE

生体外で嗅繊毛の嗅覚受容体を機能的に
プロファイリングするための遺伝学的プラットフォーム …… 18

A genetic platform for functionally profiling odorant receptors in olfactory cilia ex vivo

Senior Scientist, Yesse Technologies, Inc./
Department of Biological Sciences, Hunter College, City University of New York
(現Senior Research Director, Department of Biological Sciences, Hunter College, City University of New York)
大村 真代
Principal Scientist, Yesse Technologies, Inc.(現 Associate Director, Cellular Biology, Stablix, Inc.) 高畠 由季絵

9月13日号
RESEARCH ARTICLE

胎児マクロファージが上皮間葉転換の誘導を通じて
破水した羊膜の修復を助ける …… 20

Fetal macrophages assist in the repair of ruptured amnion through the induction of epithelial-mesenchymal transition

京都大学 医学部 婦人科学産科学 講師 最上 晴太
京都大学 医学部 婦人科学産科学 特定病院助教 川村 洋介

10月11日号
RESEARCH ARTICLE

光に反応して視細胞で産生される内在性カンナビノイドが
ショウジョウバエ（*Drosophila*）のTRPチャネルを活性化する …… 22

Endocannabinoids produced in photoreceptor cells in response to light activate *Drosophila* TRP channels

自然科学研究機構 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ 准教授 曽我部 隆彰
Duggan Professor and Distinguished Professor, Department of Molecular, Cellular,
and Developmental Biology, University of California, Santa Barbara Craig Montell

11月1日号
RESEARCH ARTICLE

セマフォリン4Dは軟骨細胞の転写機構の再構築により
関節軟骨の破壊と関節の炎症を誘導する …… 24

Semaphorin 4D induces articular cartilage destruction and inflammation in joints by transcriptionally reprogramming chondrocytes

大阪大学 大学院歯学研究科 生化学教室 講師 村上 智彦
大阪大学 大学院歯学研究科 生化学教室 教授 西村 理行

11月1日号
RESEARCH ARTICLE

ドキソルビシンはミトコンドリアDNAにインターカレートし、
Alas1依存性にヘム合成を障害することにより
フェロトーシスと心毒性を引き起こす …… 26

Doxorubicin causes ferroptosis and cardiotoxicity by intercalating into mitochondrial DNA and disrupting Alas1-dependent heme synthesis

九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 博士課程 阿部 巧
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 助教 池田 昌隆
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 講師 井手 友美
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 教授 筒井 裕之

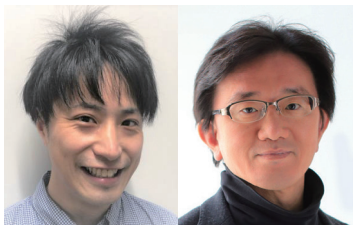
Science Signaling 1月11日号
RESEARCH ARTICLE

K. Nishiyama *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 11 Jan 2022: Vol 15, Issue 716
DOI: 10.1126/scisignal.abj0644

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abj0644

プリン作動性$P2Y_6$受容体のレドックス依存性内在化によって大腸炎の進行が抑えられる

Redox-dependent internalization of the purinergic $P2Y_6$ receptor limits colitis progression



左から西山 和宏、西田 基宏

西山 和宏 Kazuhiro Nishiyama
九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野 講師

西田 基宏 Motohiro Nishida
九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野 教授

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
西山 和宏 E-mail：knishiyama@phar.kyushu-u.ac.jp
所在地：812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1
U R L：https://physiology.phar.kyushu-u.ac.jp/

西田 基宏 E-mail：nishida@phar.kyushu-u.ac.jp
所在地：812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1
U R L：https://physiology.phar.kyushu-u.ac.jp/

Abstract

多くのGタンパク質共役受容体（GPCR）は、リガンド刺激の後、βアレスチン依存性の脱感作を受け、細胞内に取りこまれて、分解されるか細胞膜にリサイクルされる。GPCRの中には、βアレスチンとの相互作用に必要な残基がないために、この型の脱感作を受けないものもある。われわれは、プリン作動性$P2Y_6$受容体（$P2Y_6R$）の内在化と分解を促進する、レドックス依存性の内在化・分解機構（redox-dependent alternative internalization：REDAI）を解明した。種々のマウスおよびヒト培養細胞株において、求電子性のイソチオシアネート基を有する合成および天然化合物により、$P2Y_6R$のCys^{220}が共有結合的に修飾され、Lys^{137}のユビキチン化と受容体の内在化および分解が促進された。内因性求電子物質は、リガンド依存性の$P2Y_6R$の内在化と分解も促進した。$P2Y_6R$は炎症細胞にきわめて多量に存在し、大腸炎の発症を促進する。$P2Y_6R$欠損マウスは実験的に誘発される大腸炎から保護され、Cys^{220}が修飾不可能なセリンに変異した型の$P2Y_6R$を発現するマウスは、大腸炎の誘発に対する感受性が高まった。$A_{2B}AR$を含む、その他いくつかのGPCRは、REDAIを仲介するのに適した位置にシステイン残基とリジン残基を有する。イソチオシアネート化合物は、$A_{2B}AR$の内在化と、適切な残基が挿入された$P2Y_2R$の内在化を引き起こした。したがって、内因性および外因性求電子物質は、$P2Y_6R$のシステイン修飾を介して大腸炎の進行を抑える可能性があり、他のGPCRの内在化も仲介すると考えられる。

九州大学大学院薬学研究院・生理学分野
自然科学研究機構生理学研究所・
心循環シグナル研究部門

私たちの研究室では、血液循環を支配する筋組織（心臓・血管・骨格筋）が様々な環境変化に応答し、心循環恒常性を制御する機構について、シグナル伝達の視点から読み解こうとしています。九大グループと生理研グループで連携して心循環恒常性の基礎研究を進めるとともに、心循環恒常性の機能維持を主眼とする新薬開発（創薬）や既承認薬の適応拡大（育薬）を目指した応用研究も積極的に進めています。私たちの研究に興味を持たれた方はぜひご連絡ください。特に、若い学生、ポスドク研究者からのご連絡を楽しみにしています。

GPCRのシステイン修飾を介した新規内在化機構を解明

クローン病や潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患(IBD)は、寛解と再燃を繰り返す腸管の慢性炎症を特徴とする原因不明の難治性の疾患です。IBDは、腸内細菌や食生活などの環境要因と、遺伝要因、そして体内の免疫異常が重なって発症する疾患と考えられています。

Gタンパク質共役型受容体(GPCR)は、様々な生理機能や疾患形成に関わる膜タンパク質です。私たちのグループはこれまで、炎症誘導性GPCRの1つである「プリン作動性受容体$P2Y_6R$」が加齢依存的に発現増加し、高血圧や心不全の発症に寄与することを報告してきました[1-3]。一方で、IBD患者においても$P2Y_6R$の発現上昇が報告されていましたが、IBDの病態における$P2Y_6R$の役割は不明でした。

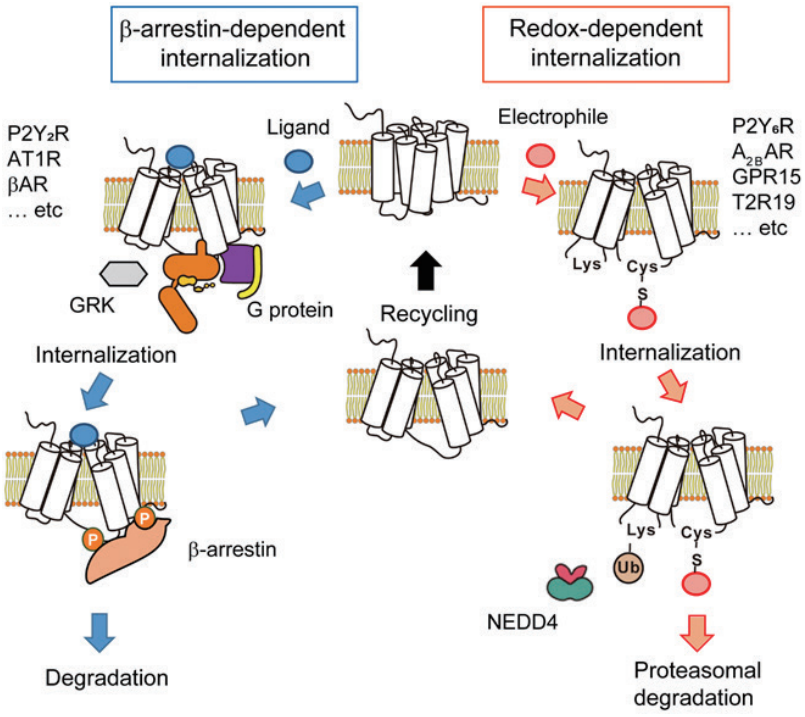
私たちは、IBDモデルであるデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発大腸炎を$P2Y_6R$欠損マウスとかけあわせた検討を行い、$P2Y_6R$欠損マウスでは野生型マウスと比較して、大腸炎の進行が抑制されることを見出しました。つまり、$P2Y_6R$がIBDの病態形成の増悪因子である可能性を個体レベルで示しました。さらに、$P2Y_6R$を阻害する化合物を探索した結果、機能性食品(ブロッコリースプラウト)に含まれるスルフォラファンなどのイソチオシアネート化合物(ITCs)が、$P2Y_6R$の内在化を促すことを明らかにしました。GPCRの細胞内取り込み機構に関しては、2012年のノーベル化学賞受賞者であるLefkowitz教授らがβアレスチンを介する経路を発見しましたが、その一方で、いくつかのGPCRはβアレスチン感受性が低いことも疑問視されていました。われわれは、βアレスチン低感受性の$P2Y_6R$を用いて、ITCが$P2Y_6R$の細胞内第3ループにあるシステイン(Cys^{220})のSH基とコバレントに結合することで$P2Y_6R$のコンフォメーションを変化させ、その結果、第2ループのリジン(Lys^{137})のユビキチン化が誘導されることを明らかにしました。$P2Y_6R$のCys^{220}をセリンに置換した変異体マウス(C220S)では野生型マウスと比較して、逆に大腸炎の進行が促進されました。さらに、Cys修飾によるLysユビキチン化を介した内在化・分解機構(redox-dependent alternative internalization：REDAI)は、$P2Y_6R$以外のGPCRでも保存されていることが確認されました(図)。

マウス個体を用いた検討により、$P2Y_6R$の発現増加によるシグナルの増幅がIBD病態を進行させる可能性が示されました。さらに、機能性食品に含まれるスルフォラファンなどのITCsがREDAIシステムを介して$P2Y_6R$を分解し、炎症を抑制することも明らかとなりました。本研究の成果により、これまでのGPCRの制御機構とはまったく異なる新規内在化機構の存在が明らかとなり、$P2Y_6R$のみならずアデノシンA_{2B}受容体や味覚・嗅覚に存在する機能未知のオーファン受容体もREDAIシステムを介して内在化する可能性が示されました。GPCRは様々な病態・疾患に関連するため、REDAIシステムを利用した治療法・医薬品開発が健康長寿社会の実現に大きく貢献するものと期待されます。

1) M. Nishida, Y. Sato, A. Uemura, Y. Narita, H. Tozaki-Saitoh, M. Nakaya, T. Ide, K. Suzuki, K. Inoue, T. Nagao, H. Kurose. $P2Y_6$ receptor-$G\alpha_{12/13}$ signalling in cardiomyocytes triggers pressure overload-induced cardiac fibrosis. *EMBO J.* 27, 3104–3115 (2008).

2) A. Nishimura, C. Sunggip, H. Tozaki-Saitoh, T. Shimauchi, T. Numaga-Tomita, K. Hirano, T. Ide, J. M. Boeynaems, H. Kurose, M. Tsuda, B. Robaye, K. Inoue, M. Nishida. Purinergic $P2Y_6$ receptors heterodimerize with angiotensin AT1 receptors to promote angiotensin II-induced hypertension. *Sci. Signal.* 9, ra7 (2016).

3) K. Shimoda, A. Nishimura, C. Sunggip, T. Ito, K. Nishiyama, Y. Kato, T. Tanaka, H. Tozaki-Saitoh, M. Tsuda, M. Nishida. Modulation of $P2Y_6R$ expression exacerbates pressure overload-induced cardiac remodeling in mice. *Sci. Rep.* 10, 13926 (2020).



図：GPCRのシステイン修飾を介した新規内在化機構

青色：既存の受容体タンパク質取り込み経路。赤色：本研究で見出したシステイン硫黄修飾を介した新規受容体取り込みおよび分解経路。本機構が機能性食品成分による抗炎症効果に重要な役割を果たすことも明らかになった。

Science Signaling 1月25日号
RESEARCH ARTICLE

Y. Miyamoto *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 25 Jan 2022: Vol 15, Issue 718
DOI: 10.1126/scisignal.abi5276

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abi5276

アダプタータンパク質SH2B1とホスファターゼPTP4A1はサイトヘジン2のリン酸化を調節することでマウスにおけるシュワン細胞による髄鞘化を促進する

The adaptor SH2B1 and the phosphatase PTP4A1 regulate the phosphorylation of cytohesin-2 in myelinating Schwann cells in mice

写真は山内 淳司

山内 淳司 Junji Yamauchi
東京薬科大学 生命科学部 分子神経科学研究室 教授

宮本 幸 Yuki Miyamoto
国立成育医療研究センター 薬剤治療研究部 分子薬理研究室 上級研究員

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
山内 淳司 E-mail：yamauchi@toyaku.ac.jp
所在地：192-0392 東京都八王子市堀之内1432-1
ＵＲＬ：https://toyaku-ls-neuroscience.com/

宮本 幸 E-mail：miyamoto-y@ncchd.go.jp
所在地：157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1
ＵＲＬ：https://www.ncchd.go.jp/

Abstract

成熟髄鞘（ミエリン鞘）は、軸索を絶縁することによって神経伝達速度を向上させるとともに、物理的損傷から神経線維を保護する。末梢神経系では、髄鞘はシュワン細胞によって形成される。グアニンヌクレオチド交換因子であるサイトヘジン2は、タンパク質Arf6を活性化させてシュワン細胞の髄鞘形成を促進する。本研究でわれわれは、サイトヘジン2の調節について調べ、結果としてサイトヘジン2のTyr^{381}のリン酸化状態がシュワン細胞の髄鞘形成にとって重要であることを明らかにした。サイトヘジン2の非リン酸化型Y381F変異を有するノックインマウスでは、坐骨神経組織において、髄鞘の厚みが減少し、Arf6の活性が低下していた。また、サイトヘジン2のTyr^{381}は、プロテインチロシンホスファターゼPTP4A1によって脱リン酸化されることをin vitroで明らかにした。一方、この部位のリン酸化はアダプタータンパク質SH2B1との相互作用によって保護されていることを見出した。シュワン細胞特異的なPTP4A1のノックダウンマウスではサイトヘジン2のリン酸化が増加し、髄鞘の厚みが増した。逆に、シュワン細胞特異的にSH2B1を欠損させると、髄鞘の厚みが減り、サイトヘジン2のリン酸化が減少した。このように、末梢神経系では、サイトヘジン2を中心とするシグナル伝達ユニットが（SH2B1を正の調節因子とし、PTP4A1を負の調節因子として）シュワン細胞の髄鞘形成を調節している。

東京薬科大学の卒研生（現修士１年生）一同

ラボの現修士１年生との集合写真です。個々に実験スペースをもっており、どの場所にいても同じ実験機器や器具を使用することができるようになっています。また、先輩後輩がランダムに並んでいて、ラボメンバー全員が仲良くなるように、みんなで話し合えるようになっています。ここ数年間、限られた範囲のなかで大学および大学院の生活をしていましたが、これからはラボの行事（新入生歓迎会、花見の会や忘年会、卒業式や追いコンなど）も、注意をしながら徐々に再開していきたいと思います。私は、ラボは研究や学業をする場所であるとともに、生涯の友人をつくる場でもあると思っていますので、今後も和気あいあいとした仲間をつくっていって欲しいと思っております。それが、欧米と日本の良いところをとった理想のラボだと思っております。今後もそれを目指していきます。

サイトヘジン２シグナルは成熟した感覚神経発生に必須である

げっ歯類のシュワン細胞と感覚神経の前駆細胞をそれぞれ97.5％以上に精製し、その後これらを共培養することで、人工的な感覚神経の有髄神経組織（神経伝達のキーとなる髄鞘をもつ成熟した感覚神経）を作ることができます。これを「試験管内髄鞘化システム」と言います。このシステムを利用し、有髄神経がどのような分子メカニズムを介してできるのかを探索したことが、この研究の発端になりました。ノンコーディングRNAライブラリーや阻害剤ライブラリーでスクリーニングを行ったところ、SecinH3という化合物を添加したとき、有髄神経ができなくなることを見出しました。SecinH3という化合物（阻害剤）の標的がサイトヘジン２であり、これが有髄神経をつくるときに重要な役割をすることが考えられ、研究を進めることにしました。サイトヘジン２は細胞の形態変化を誘導する低分子量GTP結合タンパク質であるArf6の活性化因子です。

(1)感覚神経の有髄神経の発生とともに、シュワン細胞内でサイトヘジン２のC末端側のチロシン残基がリン酸化され、Arf6を活性化しました。このリン酸化酵素がFynキナーゼであることも明らかにしました。

(2)Fynキナーゼは脳の有髄神経ができるときに重要な役割をすることがわかっている、非常によく研究されている分子ですが、これが感覚神経でも同様な役割をすることもわかりました。

(3)リン酸化されたサイトヘジン２は、SH2B1というアダプター分子と結合することで、そのリン酸化が維持され、サイトヘジン２の活性化状態も維持されることが判明しました。

(4)一方、サイトヘジン２のリン酸基は、PTP4A1という脱リン酸化酵素（フォスファターゼ）で脱リン酸化されてその活性が低下することが分かり、サイトヘジン２のリン酸化残基はPTP4A1やSH2B1によって競合的に制御されていることが示唆されました。

(5)以上、有髄神経の発生にサイトヘジン２を中核としたシグナル伝達因子複合体が重要な役割を果たすことが明らかになり、この研究が今後の発生メカニズムの全容解明の足掛りになればよいと考えています。

感覚神経は痛みを伝達する神経なので、その研究は一時的な疼痛や慢性疼痛の研究へと発展すると考えられます。その他の応用として、有髄神経の発生に関わる分子メカニズムを明らかにすることで、(1)外傷後の感覚神経再生を促進するメカニズムのヒントを得ることができ、(2)シャルコー・マリー・トゥース病に代表される、末梢神経変性疾患の発症時における神経変性を緩和できる可能性があります。

しかし、これらの疾患が直接的な原因としてヒトの生存に影響を及ぼすことがないため、どうしてもこれらが創薬研究の中心的対象とはなり得ません。そのため、基礎研究が他の組織発生の研究に比べて脆弱になりがちです。感覚神経の発生メカニズムを全容解明することが外傷後や変性後に発生プログラムの惹起につながり、ふたたび感覚神経を構築する重要なモチベーションになることを期待しています。

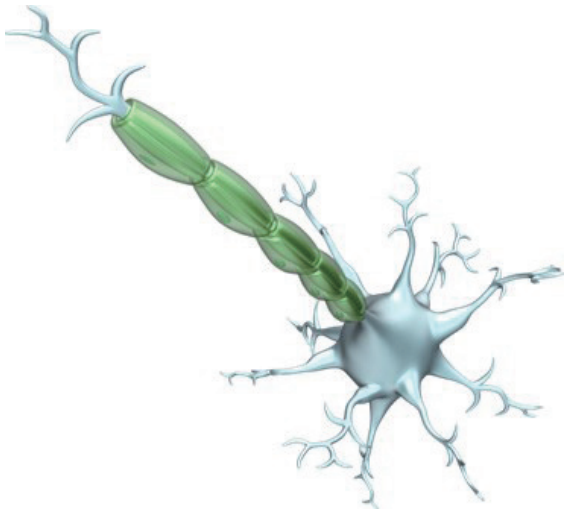


図１：成熟した感覚神経の概略図

成熟した感覚神経（感覚有髄神経）は末梢神経系に属し、①感覚神経細胞（薄い青色）と②神経から出ている突起状のもの（神経軸索）を覆う髄鞘（緑色）から形成される、比較的単純な構造をもつ神経である。

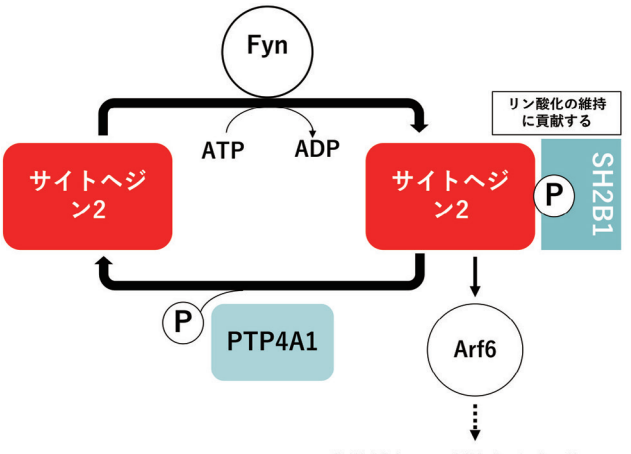


図２：サイトヘジン２を中核としたシグナル複合体

サイトヘジン２は、Fynキナーゼによってリン酸化されることで活性化される。SH2B1はそのリン酸基を保護し、PTP4A1は脱リン酸化して不活性化に導く。この活性型が、感覚神経の髄鞘化を促進する。

Science Signaling 2月8日号
RESEARCH ARTICLE

M. Kuzuya *et al*., *SCIENCE SIGNALING* 8 Feb 2022: Vol 15, Issue 720
DOI: 10.1126/scisignal.abg6941

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abg6941

ナノディスク中のヒトpannexin-1の構造が示すN末端とリン脂質の動的な動きによって調節されるゲートの開閉

Structures of human pannexin-1 in nanodiscs reveal gating mediated by dynamic movement of the N terminus and phospholipids

大嶋 篤典 Atsunori Oshima
名古屋大学 細胞生理学研究センター 教授
名古屋大学大学院 創薬科学研究科 教授（兼任）
名古屋大学 糖鎖生命コア研究所 教授（兼任）

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
E-mail：atsu@cespi.nagoya-u.ac.jp
所在地：464-8601 愛知県名古屋市千種区不老町
ＵＲＬ：http://www.cespi.nagoya-u.ac.jp/index.html

Abstract

Pannexin（PANX）ファミリータンパク質は、プリン作動性シグナル伝達を仲介する孔径の大きなチャネルを形成する。われわれは、脂質ナノディスク中のヒトPANX1の構造をクライオ電子顕微鏡（cryo-EM）で解析し、ゲート開閉の機構と、リン脂質中のアミノ末端によるその調節に関する知見を得た。野生型のチャネルでは、アミノ末端は孔内に漏斗のような形で存在するが、阻害剤プロベネシドが存在すると、細胞質側を向いたアミノ末端とリン脂質が孔を塞ぐ。ホールセル（全細胞）パッチクランプ法と卵母細胞電圧クランプ法を用いた機能解析では、アミノ末端を欠損したPANX1は開孔せず、チャネル活性にドミナントネガティブ効果をもつことが明らかにされ、アミノ末端ドメインがチャネルの開孔時にきわめて重要な役割を担うことが確認された。これらの知見は、ヒトPANX1のアミノ末端の動的な構造変化が、チェネル孔への脂質の出入りと関連することを示唆している。さらに、これらのデータはPANX1のみにとどまらず、他の孔径の大きなチャネルについても、ゲート開閉の機構に関する洞察を与えるものである。

膜タンパク質の立体構造から、膜を介したシグナル伝達を理解する

チャネル、ポンプ、Gタンパク質共役型受容体などの膜タンパク質は、神経伝達や細胞間連絡、膜を介したイオン輸送を担うことによって、様々な生命現象や組織恒常性の維持に関わっています。膜タンパク質の高分解能解析は、それらの機能を原子レベルで理解するための助けとなります。当研究グループでは創薬標的として重要な膜タンパク質の立体構造研究を、クライオ電子顕微鏡法を用いて行うとともに、クライオ電子顕微鏡用の試料調製の最適化に力を入れています。構造生物学、生化学、計算機科学を中心に、必要となる研究手法を融合して、生体膜を介した情報伝達分子機構の解明を目指した研究・教育を行っています。

PANX1 のチャネルの閉塞に関わるN末端領域と脂質

細胞膜に存在するチャネル分子には、特定のイオンを選択的に通す径の小さい通路を持つもののほかに、イオンやセカンドメッセンジャー、ヌクレオチド、アミノ酸、ペプチドなどを非選択的に通す「large pore channel」と呼ばれる孔径の大きなチャネルがあります。ヒトパネキシン1(PANX1)は後者に属し、このチャネルが開くと、生体レベルでは炎症反応やてんかんを引き起こすことが知られており、細胞レベルではがん細胞の増殖や神経細胞死に関わるとされています。これまで、脂質に囲まれた状態で、ヒトPANX1の構造変化を示す研究はありませんでした。

本研究では、ナノディスク再構成という手法を用いて、PANX1を脂質に埋め込んだディスク粒子を作製し、その試料をクライオ電子顕微鏡法で構造解析しました。その結果、通常の精製条件では、PANX1のアミノ末端領域が、チャネルの通路内側で漏斗状の構造を取って通路を大きく開いています(図1)。一方で、精製時にPANX1の阻害剤プロベネシドを添加した条件下では、阻害剤の密度は確認されなかったものの、PANX1のアミノ末端領域が細胞質側に向くと同時に、脂質がチャネルの通路内側に存在し、チャネルの通路がブロックされた構造が得られました(図2)。電気生理学実験では、この阻害剤がチャネルの活性を低下させることが確認され、阻害剤が入った条件下の構造は、チャネルが閉じていることを示唆するものでした。PANX1は、7つのサブユニットが集まってチャネルを形成しますが、隣接するサブユニットの隙間に脂質が存在していました。MDシミュレーションの結果、サブユニットの隙間に脂質が入り込む、あるいは抜け出る様子が観察されました。これらの結果から、脂質がサブユニットの隙間を縫うようにしてチャネルの通路に出入りする可能性が推察されたため、PANX1の開閉機構として、脂質がPANX1と相互作用しながらチャネル通路内へ移動する「脂質ゲーティングモデル」を提唱しました。

本研究結果は、PANX1や他のlarge pore channelについての開閉機構について洞察を与えるものです。PANX1の開閉機構が理解できれば、PANX1チャネルの活性が要因となる痛覚やがん転移を制御する技術開発や、PANX1を原因とする疾患に対する治療法や医薬品の開発につながる可能性があります。

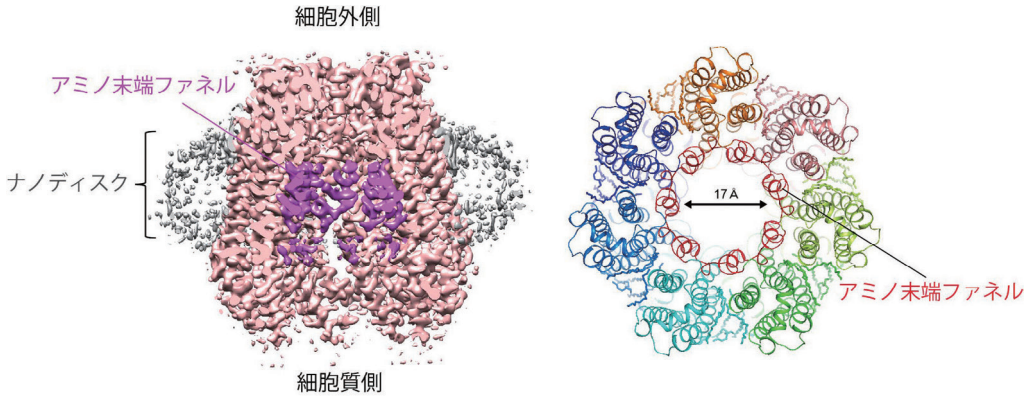


図1：アミノ末端がファネル(漏斗状の孔)を作っているPANX1の構造

(左)クライオ電子顕微鏡マップの断面を膜平面方向から見た図。
(右)原子構造のリボンモデルを細胞質側から見た図。N末端ヘリックス(赤色)で囲まれた中央がチャネルの通路となる。

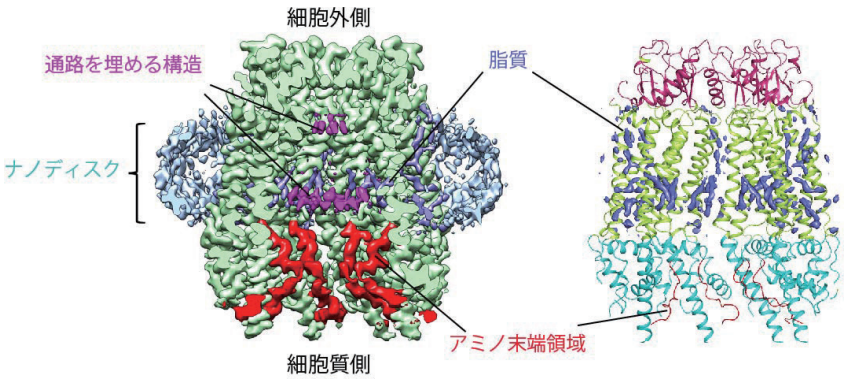


図2：阻害剤が入った条件下で得られたPANX1の構造

クライオ電子顕微鏡マップの断面(左)とリボンモデルの原子構造(右)。N末端領域(赤色)が細胞質側を向き、チャネルの通路に入り込んだ脂質(灰色)と通路を埋める密度(マゼンタ)が確認できる。

Science Signaling 3月1日号
RESEARCH ARTICLE

C. Akatsu *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 1 Mar 2022: Vol 15, Issue 723
DOI: 10.1126/scisignal.abf9570

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abf9570

抑制性共受容体CD22は*Cd45*欠損免疫不全B細胞を分化過程で調節することによりB細胞シグナル伝達を回復させる

The inhibitory coreceptor CD22 restores B cell signaling by developmentally regulating *Cd45*$^{-/-}$ immunodeficient B cells

左から赤津 ちづる、鍔田 武志

鍔田 武志 Takeshi Tsubata
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野 教授
（現 日本大学歯学部 病理学講座 客員教授）

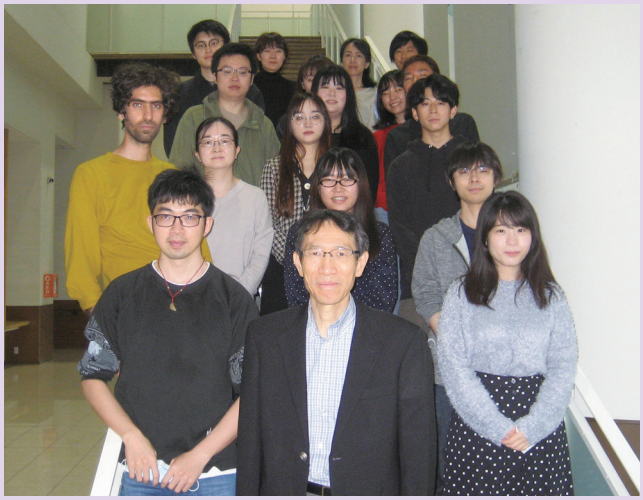
赤津 ちづる Chizuru Akatsu
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 免疫疾患分野 助教

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
鍔田 武志 E-mail：tsubata.imm@mri.tmd.ac.jp
所在地：101-8310 東京都千代田区神田駿河台1-8-13
U R L：https://www.tmd.ac.jp/imm/

Abstract

タンパク質チロシンホスファターゼCD45は、Srcファミリーキナーゼを活性化することにより、B細胞抗原受容体（BCR）シグナル伝達において重要な役割を果たす。*Cd45*$^{-/-}$マウスは、B細胞が分化過程で変化し、定常状態（BCRが架橋されていない状態）におけるシグナル伝達の低下が原因と思われる表現型を示す。しかし、*Cd45*$^{-/-}$B細胞では、BCR架橋誘導性シグナル伝達は比較的正常である。*Cd45*$^{-/-}$B細胞でBCRシグナル伝達が回復するしくみを調べたところ、共受容体CD22が、これらの細胞では抑制性から活性化機能に切り替わったことがわかった。CD22の糖鎖リガンドを合成できない*Cd45*$^{-/-}$*St6gal1*$^{-/-}$マウスを作製すること、または*Cd45*$^{-/-}$B細胞をCD22へのリガンド結合を阻害するシアル酸誘導体GSC718でin vitro処理することにより、*Cd45*$^{-/-}$B細胞においてCD22のリガンドとの相互作用を欠損させた。BCR架橋誘導性シグナル伝達は、ST6Gal1欠損によって減弱したが、GSC718処理によっては減弱せず、CD22が分化過程で細胞の性質を変化させることで*Cd45*$^{-/-}$成熟B細胞のBCR架橋誘導性シグナル伝達を回復させたことが示唆された。CD22は、*Cd45*$^{-/-}$B細胞上の細胞表面におけるIgM-BCRの量を増加させ、それによりシグナル伝達が増強された。B細胞の生存は定常状態のBCRシグナル伝達に依存するため、CD45欠損とCD22によるシグナル抑制でシグナル伝達が大幅に低下した条件下で、定常状態のシグナル伝達が比較的保たれたIgM-BCR^{hi} *Cd45*$^{-/-}$B細胞が選択的に生存し、IgM-BCRの存在量が増加したと考えられる。X連鎖無ガンマグロブリン血症を含む他のBCRシグナル伝達欠損症の患者のB細胞では、表面IgM-BCRの量が増加するため、われわれの知見は、CD22がこれらの患者のB細胞機能の部分的回復に寄与する可能性があることを示唆している。



糖鎖とB細胞応答

糖鎖は、抗原としてB細胞の抗体産生応答を誘導し、また制御因子として働いてB細胞の応答を調節します。タンパク質抗原とは異なり、多糖はT細胞によっては認識されず、T細胞の補助なしにB細胞を活性化して抗体産生を誘導します。また、糖鎖はB細胞表面の糖鎖結合タンパク質（レクチン）に反応するなどによりB細胞の機能を制御しますが、特定の糖鎖が異なる種々の糖タンパク質や糖脂質に存在するため、特定のレクチン分子に種々のリガンドが結合します。このように、糖鎖の性質はタンパク質とは大きく異なりますが、どのように糖鎖が抗体産生を誘導し、B細胞を調節するのか、その実体は謎に包まれています。私たちの研究グループでは、日本大学歯学部に移動後もこのような未知の世界に挑戦しています。

B細胞のシグナル伝達クオリティーコントロールメカニズムの発見

細胞表面には多数の糖タンパク、糖脂質、グリコサミノグリカンなど、糖を含む分子が存在し、Glycocalyx(糖皮)と呼ばれる糖鎖の層ができています。細胞表面にはレクチンと呼ばれる糖鎖に結合するタンパク質も存在し、Glycocalyxの中で種々の分子の糖鎖と会合することで分子間ネットワークを形成すると考えられていますが、その実態はほとんど明らかではありません。私たちの研究グループでは、Bリンパ球に発現する抑制性受容体の1つであるCD22とその糖鎖リガンドのGlycocalyx内での相互作用がどのような機能を果たすのかに興味を持ち、解析を進めてきました。

CD45は、B細胞抗原受容体(BCR)およびT細胞抗原受容体(TCR)シグナル伝達で重要な役割を果たすSrcファミリーのチロシンキナーゼの活性化に必須の分子です。CD45を欠損するとTCRシグナル伝達が阻害され、T細胞の発生が障害されます。一方、B細胞は正常に発生し、BCRシグナル伝達もほぼ正常です。私たちはCD22と糖鎖リガンドとの会合がCD45欠損B細胞のBCRシグナル不全を回復させること、しかもBCRシグナル伝達そのものに作用するのではなく、B細胞の分化過程でB細胞を変化させることによりBCRシグナル伝達を回復させることを明らかにしました。

BCRは抗原と反応してB細胞を活性化しますが、抗原と反応がない状態でもtonic signalと呼ばれる低レベルのシグナルを伝達し、tonic signalはB細胞の生存に必須です。私たちは、CD22がおそらくBCRの糖鎖を認識することで、BCRのtonic signal伝達を抑制し、tonic signalを含むBCRシグナル伝達が比較的正常なB細胞のみが選択的に生存するため、CD45欠損B細胞のBCRシグナル伝達が回復することを明らかにしました。この結果は、CD22によるtonic signalの抑制がB細胞のクオリティーコントロールに関わっており、免疫不全B細胞のシグナル機能を回復させることを明らかにしました。

私たちの今回の成果は、B細胞の分化過程でのクオリティーコントロールの重要性とそのメカニズムを明らかにしました。このメカニズムの解明をさらに進めることで、先天性免疫不全症の症状を和らげたり、老化による抗原特異的な抗体産生の低下を回復させたり、感染防御やワクチンの効果を増強させたりする手法の開発につながるものと期待されます。

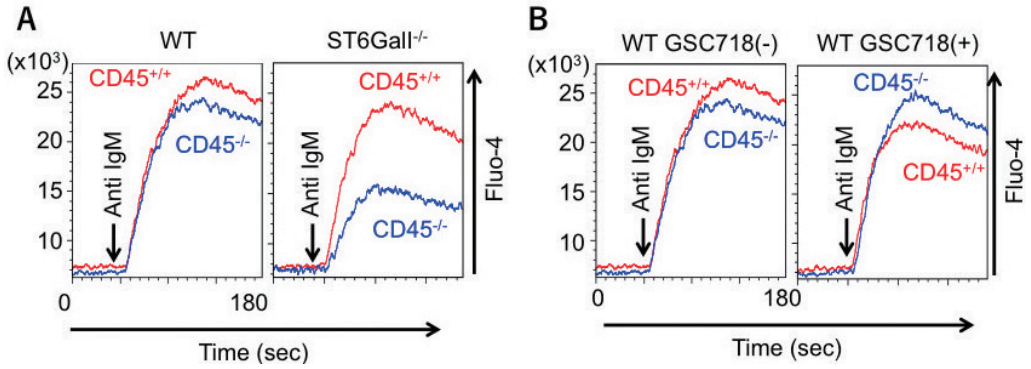


図1：CD22糖鎖リガンドによるCD45$^{-/-}$B細胞のBCRシグナル伝達の回復

CD45$^{-/-}$B細胞では、ST6Gall欠損によりCD22の糖鎖リガンド認識を持続的に阻害すると顕著にBCR架橋時のCa^{2+}シグナルが低下するが、シアル酸誘導体GSC718によりCD22の糖鎖リガンドとの反応を一時的に阻害してもシグナル伝達は低下しない。

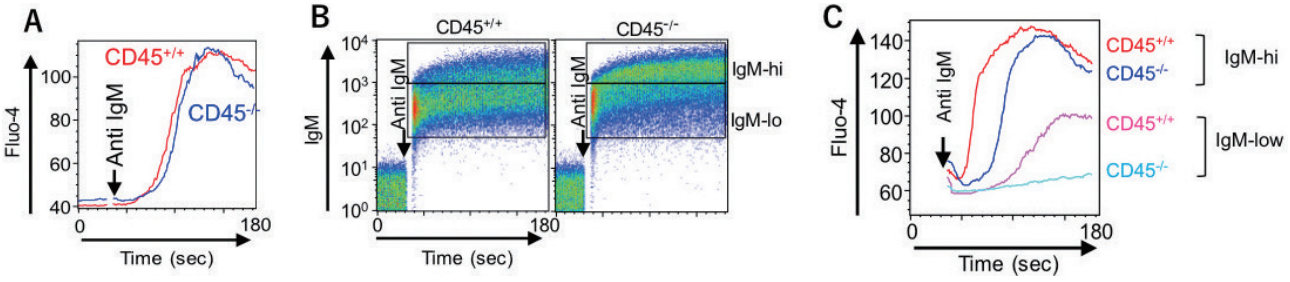


図2：CD45$^{-/-}$B細胞でのBCR発現増強によるBCRシグナル伝達の回復

CD45$^{-/-}$B細胞全体としてのBCR架橋によるCa^{2+}シグナルは正常であるが、BCR発現が増加しており、IgM^{hi}およびIgM^{lo}B細胞に分画すると、両分画において顕著にシグナル伝達が低下する。

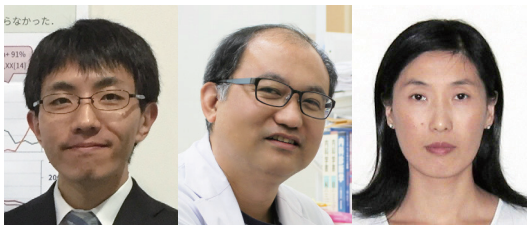
Science Signaling 3月8日号
RESEARCH ARTICLE

M. Fukatsu *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 8 Mar 2022: Vol 15, Issue 724
DOI: 10.1126/scisignal.abd2533

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abd2533

LPS誘発ALI/ARDSの発症機序におけるMer阻害の炎症反応抑制効果

The suppressive effects of Mer inhibition on inflammatory responses in the pathogenesis of LPS-induced ALI/ARDS



左から深津 真彦、大河原 浩、王 新涛

深津 真彦 Masahiko Fukatsu
福島県立医科大学 血液内科学講座 助手

大河原 浩 Hiroshi Ohkawara
福島県立医科大学 血液内科学講座 准教授（現 博士研究員）

王 新涛 Xintao Wang
福島県立医科大学 血液内科学講座 助教
（現 呼吸器内科学講座 博士研究員）

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

大河原 浩 E-mail：ohkawara@fmu.ac.jp
所在地：960-1295 福島県福島市光が丘1
ＵＲＬ：https://www.hemato.fmu.ac.jp/

深津 真彦 E-mail：fukatsu@fmu.ac.jp
所在地：960-1295 福島県福島市光が丘1
ＵＲＬ：https://www.hemato.fmu.ac.jp/

Abstract

敗血症誘発性の急性肺傷害（ALI）/急性呼吸窮迫症候群（ARDS）の発症機序はまだ十分に解明されていない。Growth arrest-specific 6（Gas6）は、TAMファミリーの受容体型チロシンキナーゼであるTyro3、AxlおよびMerとの相互作用を介して、止血に顕著な影響を及ぼし、炎症を軽減する。今回われわれは、Gas6と可溶性Merの血漿中濃度が、重症敗血症または敗血症性ALI/ARDSの患者において健常者と比較して高いことを見出した。Gas6-Mer経路がALI/ARDSの発症機序において重要かどうかを明らかにするため、リポ多糖（LPS）を吸入させたALIマウスモデルにおいて、選択的Mer阻害剤であるUNC2250を静脈内投与したときの効果を検討した。UNC2250は、マウスのLPS誘発ALIにおいて、Gas6およびMerタンパク量の増加を伴う好中球と単球の肺への浸潤、高度肺障害、活性酸素種（ROS）量の増加を顕著に抑制した。ヒト肺大動脈内皮細胞では、LPSによって内皮型一酸化窒素合成酵素、トロンボモジュリン、血管内皮カドヘリンの量が減少したが、この減少はUNC2250での処理により拮抗された。UNC2250はさらに、ヒト好中球様細胞株のHL-60細胞と、マウス単球/マクロファージ細胞株のRAW264.7細胞において、LPS依存性の細胞増殖を抑制し、アポトーシスを促進した。これらのデータは、ALI/ARDSにおける炎症反応の治療薬として、Mer阻害剤UNC2250がもたらす可能性のある様々な有益な効果について知見を与えるものである。

福島県立医科大学 血液内科学講座

附属病院血液内科では、年間30例前後の同種造血幹細胞移植のほか、臨床研究や新薬の治験も含めて、幅広い血液疾患の診療を行っています。地域住民の健康を守りつつ、難治性血液疾患に対するより効果的で安全な次世代治療の創出に貢献できるよう、学内外のさまざまな研究グループや医療機関と連携しながら取り組んでいます。

感染症・呼吸器合併症を防ぎ、より安全性の高い血液疾患の診療を目指す

白血病、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫などの血液疾患の治療や造血幹細胞移植を受ける患者さんは、著しい造血障害と免疫不全を伴うことから、重症感染症・敗血症に対して極めて脆弱です。このため、感染症に続発する急性肺傷害(ALI)/急性呼吸窮迫症候群(ARDS)のような呼吸器合併症が生命予後を左右することがしばしば経験されます。しかし、いまだALI/ARDSには特異的な治療法が確立されておらず、ときに致命的な経過を辿ります。

当研究グループはこれまで、Gas6というタンパク質とその受容体Merが、多発性骨髄腫の進行(*J Biol Chem*. 2017; 292: 4280)や、造血幹細胞移植における血栓性微小血管症(*Blood Adv*. 2019; 3: 2128)などに関与していることを報告してきました。本研究では、これまでの知見や解析手法を発展させて、ALI/ARDSにおけるGas6-Mer経路に着目した解析を行いました。

ALI/ARDSの動物モデルとして、マウスにリポ多糖(LPS)を吸入させると、肺胞洗浄液中の炎症細胞の増加や、組織学的なびまん性肺胞傷害を示します。これらのモデルマウスでは血中Gas6の上昇を認めました。このモデルマウスにMerの阻害剤であるUNC2250を投与したところ、炎症細胞浸潤や肺胞傷害が抑制され、生存率が改善しました。培養細胞を用いてUNC2250の作用メカニズムをさらに検証すると、炎症細胞である好中球・マクロファージの増殖や、炎症性サイトカイン・活性酸素種の産生を抑制する効果に加えて、血管内皮の恒常性の維持に重要な分子(eNOS、トロンボモジュリン、VE-cadherin)の発現を保つ効果があることがわかりました。実際に血液疾患の治療中にALI/ARDSを発症した患者の血中では、そうでない患者に比べて、Gas6と可溶性Merの濃度が上昇していました。

以上のことから、Gas6-Mer経路は血液疾患に合併したALI/ARDSの治療標的となり、重篤な合併症を減らして安全な治療に寄与する可能性が示されました。

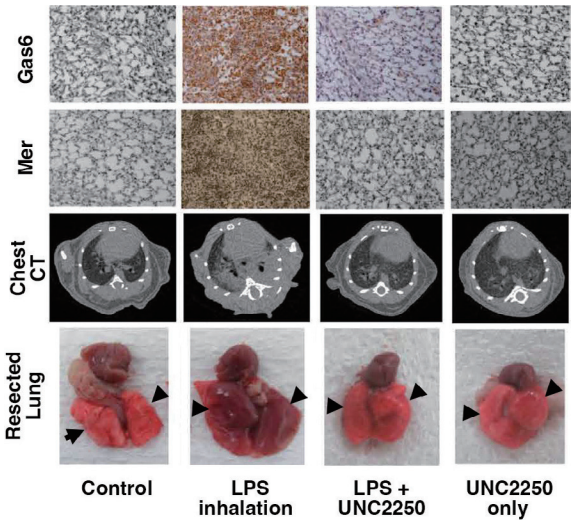


図1：LPS誘発性ARDSマウスモデルにおけるMer阻害剤UNC2250の効果

上2段：LPS吸入によって肺胞への炎症細胞浸潤が増加し、免疫組織学的にGas6とMerの発現を認める。
下2段：CTやマクロでもARDSの像を呈し、これらはUNC2250投与により抑制される。

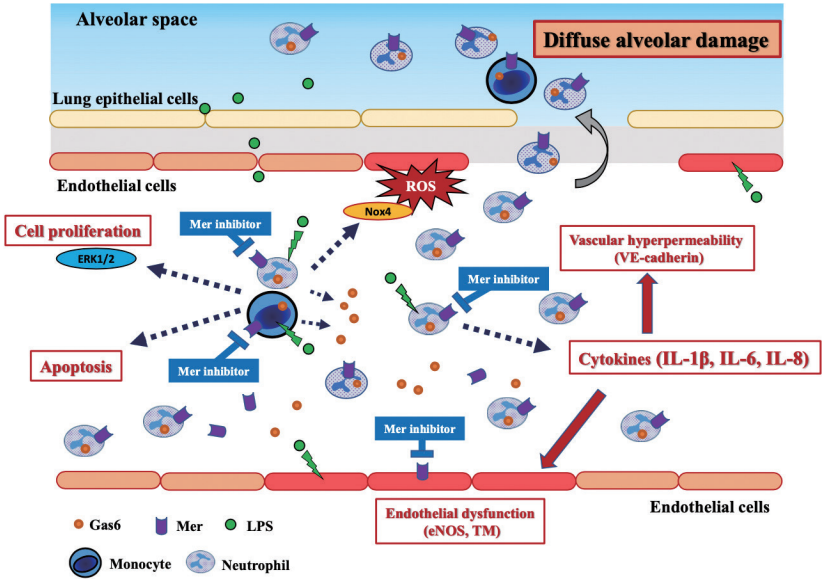


図2：ARDSの病態で想定されるGas6-Mer経路の役割

Gas6とMerは、肺胞における好中球・単球のサイトカイン・ROS産生や、血管内皮の恒常性維持に対する作用を介して、ARDSの進展に関与すると考えられる。

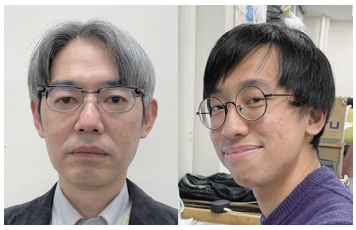
Science Signaling 4月12日号
RESEARCH ARTICLE

Y. K. Chong *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 12 Apr 2022: Vol 15, Issue 729
DOI: 10.1126/scisignal.abm5011

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abm5011

サイクリンJ-CDK複合体はマクロファージの代謝の炎症性変化を抑制することで自然免疫応答を制限する

Cyclin J-CDK complexes limit innate immune responses by reducing proinflammatory changes in macrophage metabolism



左から竹内 理、Yee Kien Chong

竹内 理 Osamu Takeuchi
京都大学大学院 医学研究科 医学専攻分子生体統御学講座 医化学分野 教授

Yee Kien Chong
京都大学大学院 医学研究科 医学専攻分子生体統御学講座 医化学分野 博士研究員

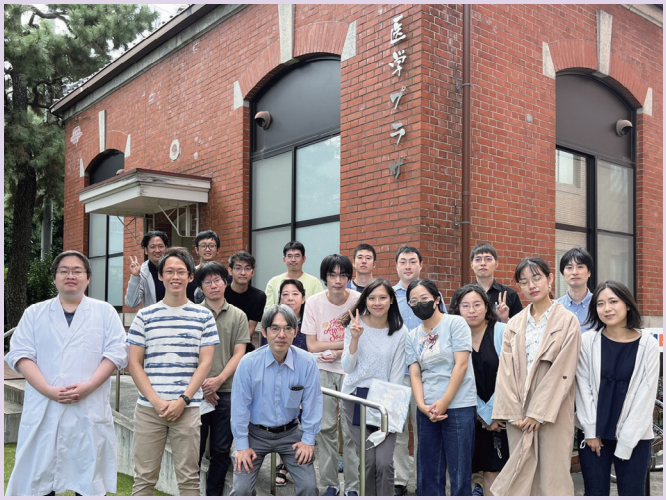
すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
竹内 理 E-mail：otake@mfour.med.kyoto-u.ac.jp
所在地：606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町
U R L：https://mc.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/

Yee Kien Chong E-mail：cyeekien@mfour.med.kyoto-u.ac.jp
所在地：606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町

Abstract

Toll様受容体（TLR）の刺激は、いずれもマクロファージにおける炎症反応にきわめて重要である解糖およびミトコンドリア活性酸素種（ROS）の産生を誘導する。われわれは本稿で、TLR誘導性のサイクリンファミリーメンバーであるサイクリンJが、解糖およびミトコンドリア機能をともに制御することで、マクロファージのサイトカイン産生を減少させることを明らかにした。サイクリンJはサイクリン依存性キナーゼ（CDK）と相互作用し、それによって転写因子FoxK1およびGTPアーゼDrp1を含むCDK基質のサブセットのリン酸化を促進していた。FoxK1のサイクリンJ依存的リン酸化は解糖系遺伝子の転写およびHif-1α活性化を減少させ、一方でサイクリンJ依存的リン酸化によるDrp1の過剰活性化はミトコンドリアの断片化を促進し、ミトコンドリアROS産生を抑制した。マウスにおいて、マクロファージのサイクリンJは腫瘍移植片の成長を制限するとともにLPS誘導性ショックから防御していたが、逆に細菌感染に対する感受性を増大させていた。これらの知見は、サイクリンJ-CDKのシグナル伝達が、マクロファージの炎症反応を駆動する代謝変化に拮抗することにより、抗腫瘍免疫の促進および炎症の収束を促進することを示している。



自然免疫の制御を目指して

自然免疫は、ウイルスや細菌など感染防御だけではなく、自己免疫疾患や代謝性疾患、がんの進展、老化などさまざまな病気に関連しています。その制御メカニズムを解明することは、新たな治療法の開発にもつながると考えています。
本研究室では、自然免疫の制御メカニズムを、遺伝子改変マウスモデルを中心に多角的に研究しています。免疫や私達の研究に興味のある学生さんなど、おられましたらご連絡ください。

サイクリンJによるマクロファージ制御機構の解明

マクロファージは、炎症応答や組織修復、がん免疫などに重要な自然免疫細胞です。マクロファージは、感染した病原体をToll様受容体(TLR)などのセンサーにより認識し、細胞内にその情報を伝達し、炎症応答に関わる多くの遺伝子を発現します。マクロファージ活性化の過程で、代謝経路にダイナミックな変化が起こります。細胞は、解糖系、もしくはミトコンドリアの酸化的リン酸化によりATPを得ますが、マクロファージの活性化により、酸化的リン酸化から好気的解糖へと代謝がシフトします。
一方、サイクリンファミリーはヒトで30種類ほど存在するタンパク質で、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)と結合して細胞周期の調節に働くことが知られています。最近、サイクリン分子が、新たな機能を持つことが報告されてきましたが、炎症を制御する分子機構は不明でした。

本研究では、マクロファージにおけるサイクリンファミリーの遺伝子発現変化を網羅的に解析し、機能未知の分子であるサイクリンJの発現が、細胞周期とは関係なく、TLR刺激やウイルス感染時に産生されるI型インターフェロンにより誘導されることを見出しました。
マクロファージにサイクリンJを発現させるとTLR刺激に対するサイトカイン産生を抑制しましたが、逆にサイクリンJ欠損細胞ではサイトカイン産生が亢進していました。また、サイクリンJ発現マクロファージでは、解糖系やミトコンドリアの酸化的リン酸化やミトコンドリアの活性酸素発現も抑制されていました。
分子機構の解析から、サイクリンJはCDKに結合し、Foxk1やDrp1のリン酸化を誘導し、Foxk1による解糖系の活性化を抑制するとともに、Drp1によるミトコンドリア分裂を誘導することで酸化的リン酸化を抑制し、マクロファージからのサイトカイン産生を抑制していることがわかりました(図1)。
また、マクロファージ特異的にサイクリンJを欠損するマウスは、細菌感染に対して対照群より耐性になっていること、腫瘍マクロファージの制御によりがん免疫応答が抑制され、腫瘍が増大してしまうことも見出しました(図2)。

本研究で、マクロファージの代謝を通じて機能を制御する鍵分子としてサイクリンJが存在することを発見しました。この結果は、サイクリンJが、マクロファージの代謝制御や、感染防御、がん免疫などに対する創薬のターゲットとなる可能性を示しています。
マクロファージは単一のタンパク質だけから制御を受けている訳ではなく、多くのタンパク質が複合的に作用しています。これらの機構を包括的に解明することで、マクロファージ制御の全体像につなげてきたいと考えています。

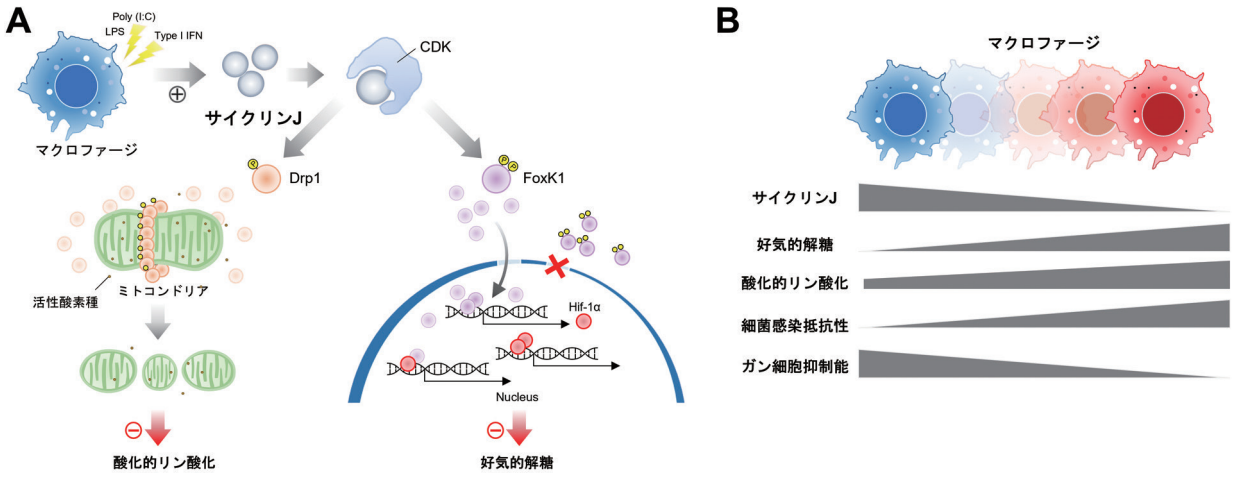


図1：サイクリンJによるマクロファージ制御モデル
(A)サイクリンJによる炎症抑制メカニズム。 (B)サイクリンJ発現とマクロファージ状態の関連

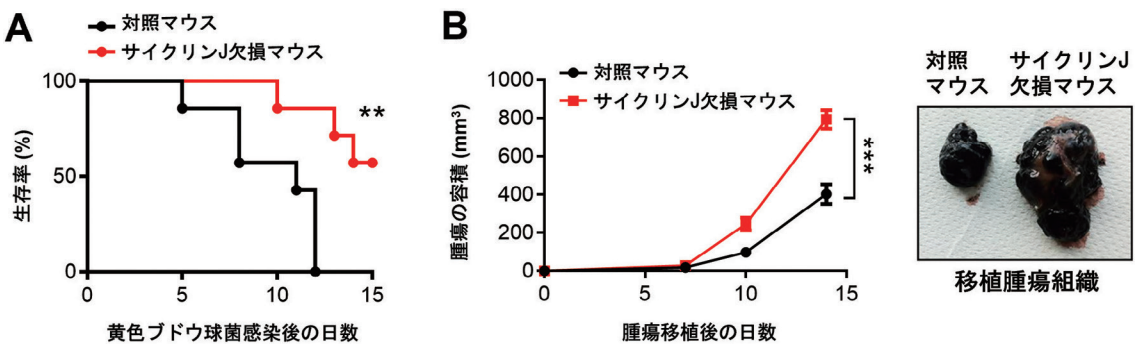


図2：マクロファージ特異的サイクリンJ欠損マウスの細菌感染や腫瘍移植に対する応答
マクロファージ特異的サイクリンJ欠損マウスでは、黄色ブドウ球菌感染に対する生存率が改善し(A)、移植した腫瘍組織が増大する(B)。

Science Signaling 8月9日号
RESEARCH RESOURCE

M. Omura *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 9 Aug 2022: Vol 15, Issue 746
DOI: 10.1126/scisignal.abm6112

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abm6112

生体外で嗅繊毛の嗅覚受容体を機能的にプロファイリングするための遺伝学的プラットフォーム

A genetic platform for functionally profiling odorant receptors in olfactory cilia ex vivo

左から大村 真代、高畠 由季絵

大村 真代 Masayo Omura
Senior Scientist, Yesse Technologies, Inc./ Department of Biological Sciences, Hunter College, City University of New York
(現Senior Research Director, Department of Biological Sciences, Hunter College, City University of New York)

高畠 由季絵 Yukie Takabatake
Principal Scientist, Yesse Technologies, Inc.
(現 Associate Director, Cellular Biology, Stablix, Inc.)

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
大村 真代　E-mail：momura@genectr.hunter.cuny.edu　所在地：695 Park Avenue, 904 North Building, New York, NY 10065, USA
U R L：http://feinstein.bioweb.hunter.cuny.edu/
高畠 由季絵　E-mail：ytakabatake@stablix.com　所在地：ACLS East Tower, Suite 502, 450 East 29th Street, New York, NY 10016, USA
U R L：https://www.stablix.com/

Abstract

ヒトにおける匂いの知覚の分子基盤は、嗅覚受容体(OR)を生来の環境の外で研究するのが難しいため、謎に包まれている。それは、in vitroにおいてORの細胞表面での発現効率の低さが原因で、ORを発現させて機能的にプロファイリングするための努力によってもたらされた成果が限られているからである。嗅覚神経細胞の表面から突出している繊毛と呼ばれる構造体は、嗅覚シグナル伝達機構の全構成要素を含有しており、ex vivoのプレートアッセイで匂い特異的な反応を迅速に測定可能である。本稿でわれわれは、OR1A1とOR5AN1という2つのヒトORを発現するマウスの嗅覚ニューロンから単離された繊毛を用い、以前のアッセイに比べて10倍から100倍のリガンド感受性を示す手法について説明する。マウス1匹から産生された繊毛は、最大で384ウェルアッセイプレートの4,000ウェルでアッセイが可能であり、単離された繊毛は冷凍貯蔵による保存が可能である。この供給ラインは、ヒトの嗅覚を解読する可能性をもつ、高感度で規模拡張性の高い生体外での匂いスクリーニングプラットフォームを提供する。

いつでもどこでも前を向いて!

本プロジェクトは、スタートアップYesse TechnologiesとHunter College, City University of New Yorkの共同研究で行われました。残念ながら、Yesse Technologiesは閉鎖してしまいましたが、引き続き嗅覚の謎解きプロジェクトはNew York Cityで開拓精神と探究心を忘れず追究していきます。研究に限らず、いつどこにいて何をしていても人は支え合っていて、経験は消えることはありません。Charlotte D'Hulst博士、Paul Feinstein博士、そしてYesse Technologiesのメンバーに感謝の意をここに記したいと思います。

写真：マンハッタン、アッパーイーストサイドにあるHunter College, CUNYのFeinstein labから望むある日の夕焼け

ヒトの嗅覚入力コードを解き明かすための基盤の構築

空気中に存在する匂い物質を受容・認識する嗅覚は、鼻腔の中の嗅神経細胞(OSN)と中枢神経系のネットワークの活性化によって私たちにもたらされます。匂い物質が、OSNの繊毛の膜に発現している嗅覚受容体(OR)に結合することから始まります。多種多様な匂い物質を識別するために、ヒトでは約400種類のORが機能しています。匂い物質とORの多様性に加え、ORは培養細胞で膜表面に機能的に発現させることが難しく、ORがクローニングされて30年経った現在でも網羅的なORの機能解析はあまり進んでいません。私たちはこれまでに、OR遺伝子のOSNにおける選択的な発現を制御するエンハンサー配列を用い、目的ORを高頻度かつ選択的に発現させることに成功しています(図1上段)。そこで、本研究では目的ORを高頻度かつ選択的にOSNで発現するトランスジェニックシステムと、ORを含む匂いの情報伝達の分子群を内在的に発現しているOSNの嗅繊毛を用い、第二次伝達物質であるcAMPの濃度変化を指標としたex vivo匂い応答検出システムを組み合わせ、ヒトの嗅覚の入力機構の網羅的解析のための基盤構築に取り組みました(図1)。

本論文では、ヒトのOR1A1とOR5AN1をターゲットとしました。緑色蛍光カルシウムセンサーGCaMPを同時発現させて、目的OR発現細胞を可視化しました(図2A)。1匹のトランスジェニックマウスから、最大384ウェルプレート4,000ウェル分の匂い応答測定が可能になりました。OR1A1とOR5AN1発現マウスの繊毛サンプルは野生型のサンプルと比較し、それぞれのリガンド溶液に有意に応答を示しました(図2B)。12種類のムスク様の匂い物質の濃度を変化させてOR5AN1サンプルの応答を測定したところ、10種のムスク様物質に異なる親和性をもって応答し、OR1A1嗅繊毛サンプルはcarvoneの光学異性体を識別することができました。さらに、リガンドの蒸気刺激による匂い応答の検出も可能でした。これらのex vivoアッセイの結果は、従来の匂いアッセイに比べて約10～100倍の感度をもっていました。本トランスジェニックシステムは想定上、あらゆるヒトOR遺伝子の挿入が可能であり、ヒトORの網羅的な機能解析が高感度、ハイスループットで可能となる基盤構築に成功しました。

本研究では、トランスジーンがゲノム上にランダムに挿入されるシステムを使用しましたが、現在、より正確かつ安定した発現を得るために安全な遺伝子座にノックインで目的ORを発現させるシステムの構築が進んでいます。近年、嗅覚によって、パーキンソン病や一部のガンなどの病気の検知が報告されています。本システムは特定の匂いに対するORを同定し、センサーを構築するうえでも役立つと考えられ、ヒトの嗅覚の入力メカニズムの解明とヘルスケアをサポートする応用面の両方向での貢献が期待されます。

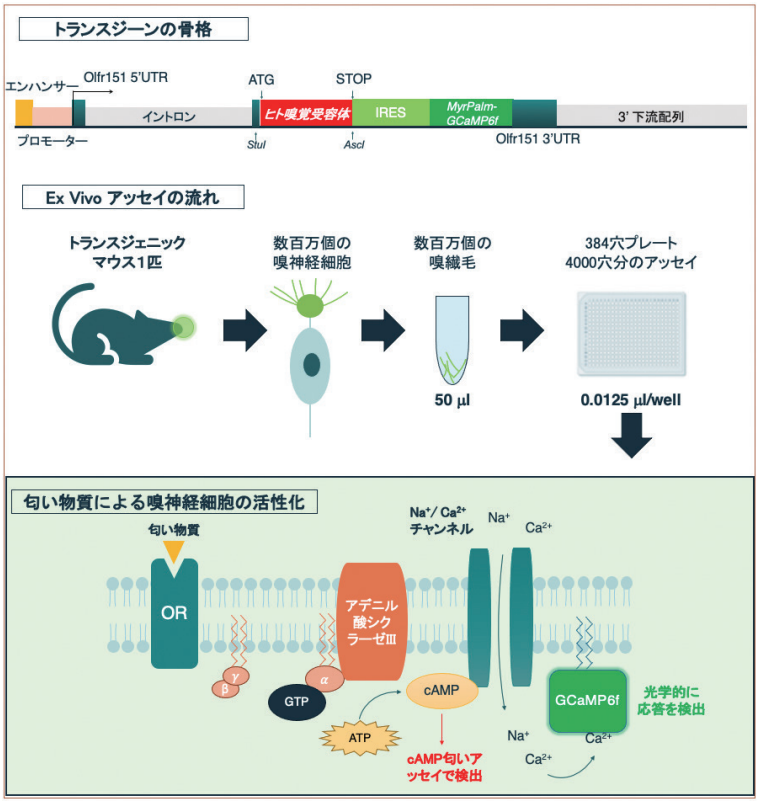


図1：嗅覚受容体高発現トランスジェニックマウスを用いた匂い応答解析システム

上段：トランスジーンの骨格。マウス嗅覚受容体Olfr151の基本骨格にエンハンサーを付加し、ヒト嗅覚受容体を設置。中段：アッセイの流れ。下段：第2次伝達物質のcAMPを測定し、匂い応答を評価。

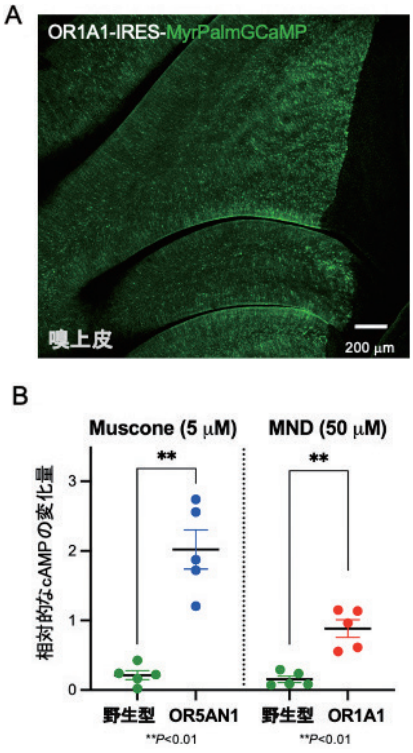


図2：嗅覚受容体高発現トランスジェニックマウスとex vivo匂い応答

A：ヒト嗅覚受容体OR1A1とGCaMPを発現させたマウスの嗅上皮。B：ヒトOR5AN1とOR1A1高発現マウスの繊毛を用いた匂いアッセイの結果。野生型に対し、それぞれのリガンドに有意に応答した。

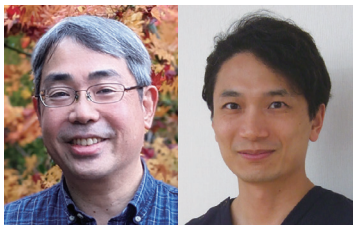
Science Signaling 9月13日号
RESEARCH ARTICLE

Y. Kawamura *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 13 Sep 2022: Vol 15, Issue 751
DOI: 10.1126/scisignal.abi5453

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abi5453

胎児マクロファージが上皮間葉転換の誘導を通じて破水した羊膜の修復を助ける

Fetal macrophages assist in the repair of ruptured amnion through the induction of epithelial-mesenchymal transition



左から最上 晴太、川村 洋介

最上 晴太 Haruta Mogami
京都大学 医学部 婦人科学産科学 講師

川村 洋介 Yosuke Kawamura
京都大学 医学部 婦人科学産科学 特定病院助教

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact
最上 晴太 E-mail：mogami@kuhp.kyoto-u.ac.jp
所在地：606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町54
U R L：https://obgy.kuhp.kyoto-u.ac.jp/labo/labo_02.html

川村 洋介 E-mail：ykawa@kuhp.kyoto-u.ac.jp
所在地：606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町54
U R L：https://obgy.kuhp.kyoto-u.ac.jp/labo/labo_02.html

Abstract

早産期前期破水（pPROM）と呼ばれる羊膜の破綻は、早産の主要な原因である。しかしまれに、このように破綻した卵膜が自然に治癒することがある。本研究でわれわれは、卵膜のうち胎児に最も近い上皮細胞層である羊膜の修復機構を検討した。ヒトおよびマウスの羊膜において、マクロファージは破膜部に遊走して集積していた。破膜部では、「上皮間葉転換（EMT）」と呼ばれる上皮細胞が間葉細胞の表現型を獲得し、組織修復に関係するプロセスが認められた。マクロファージ欠損胎仔の母獣では、破水した羊膜の修復が不良であり、破膜部にはEMTがほとんど認められなかった。創傷治癒アッセイにおいて、ヒト培養羊膜上皮細胞の遊走にはTGF-β-Smadシグナル伝達を通したEMTが介在していた。これらの所見は、胎児マクロファージが羊膜上皮細胞のEMTを誘導し、羊膜修復に重要な役割を担っていることを示唆している。

京都大学 医学部 婦人科学産科学 周産期研究室

私たちの研究室では周産期医療の向上に寄与することを目指し、前期破水に対する新規治療法の開発、妊娠中の子宮頸部のムチンタンパクによる防御機構の解明、iPS細胞を用いた絨毛細胞の分化機構の解明、胎盤機能再生療法の開発などの研究を行っています。周産期領域はがんや生活習慣病などと比べて非常にマイナーな研究領域であり、研究者も少なく研究資金も限られています。また私たちは、患者さんのために臨床業務もしないといけません。このような厳しい研究環境の中でも、*Science Signaling*のような一流誌に私たちの研究成果を発表できたことは望外の喜びです。大金をつぎ込んだムーンショットな研究より、着眼点の面白さ、実験の工夫などにより、今後の臨床の基礎となるような地道でおもしろい研究を続けていきたいと思っています。

子宮内胎児マクロファージによる羊膜の創傷治癒機構

早産のうち約3割は、胎児を包む卵膜が妊娠37週未満に破綻する前期破水が原因となります。早産は新生児死亡の大部分を占め、ときに児に後遺症を残します。また早産などにより低出生体重児で出生することは、胎児プログラミング説によると、高血圧、糖尿病、脂質代謝異常など児の成長後の生活習慣病のリスクファクターとなります。さらに、早産児では発達障害や統合失調症などの精神・神経疾患の発症が増加することも指摘されています。このように早産は医学的・社会的にも大きな問題です。

多くの前期破水例は数日以内に陣痛発来して分娩となり、これまでは治療不可能な状態と考えられていました。しかし妊娠中期の破水は、まれに数週間～数ヵ月分娩にいたらないこともあり、前期破水が自然治癒(re-sealing)する場合があることが臨床上経験されます。本研究では、破水が自然治癒する機構から、羊膜の再生・治癒のメカニズムについて探りました。

ヒトの前期破水症例を組織学的に観察すると、破水した羊膜の断端部にマクロファージが多数集積していました。そこで、マウス前期破水モデルを作成したところ、24時間後には羊膜の断端部の間葉細胞の増殖が始まり、マクロファージの遊走がみられました。そして48～72時間後には増殖した羊膜間葉細胞の表面を上皮細胞が覆い、羊膜の治癒が確認されました。このとき、羊膜上皮細胞では上皮間葉転換が生じていました。つまり、マクロファージがTGF-β-Smadシグナルを介して羊膜の上皮間葉転換を促進することが推察されました。さらに、胎仔マクロファージの欠損マウスを作製して解析すると、羊膜の治癒が著明に不良となり、上皮間葉転換も確認されませんでした。以上より、羊膜の治癒・再生には胎児マクロファージが必須であることが明らかとなりました。

将来の前期破水に対する治療戦略としては、羊膜がダメージを受けたら、破水が生じる前にその原因を除去するか早めに修復させる、あるいはもし破水してしまったら、マクロファージを遊走・活性化させるような因子を局所投与して羊膜の創傷治癒を促進させる、などの方法が考えられます。これまで前期破水は治療不可能と考えられていましたが、私たちはこの視点を180度変え、羊膜の治癒機構の一端を解明しました。将来、前期破水を予防して「治る病気」とするために、さらに研究を続けていきたいと思います。

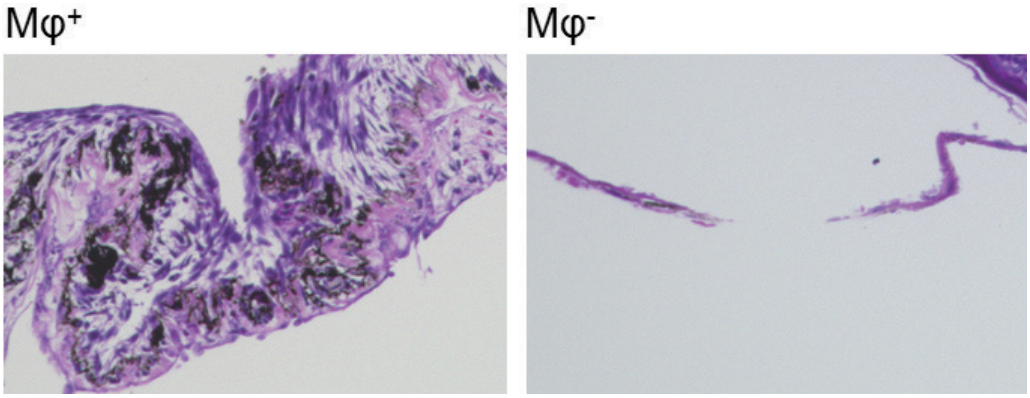


図1：胎仔マクロファージ欠損マウスの羊膜治癒(H&E染色)

野生型(左)では破水部羊膜に間葉細胞の増加が著明で治癒しているが、胎仔マクロファージ欠損マウス(右)では羊膜の治癒がほとんどみられない。(黒色は墨汁によるマーキング)

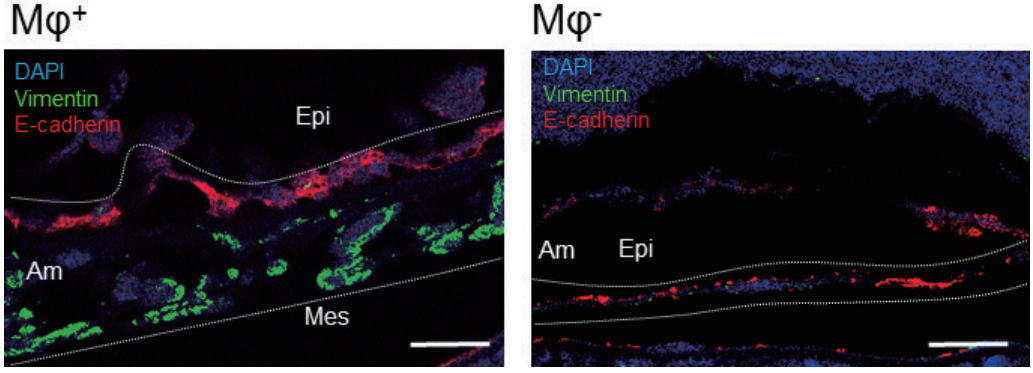


図2：マウス羊膜の上皮間葉転換(蛍光免疫染色)

野生型(左)では破水部羊膜上皮にE-cadherin$^+$、vimentin$^+$の細胞がみられ、上皮間葉転換が確認されるが、胎仔マクロファージ欠損マウス(右)では羊膜上皮にvimentin$^+$細胞がほとんどみられない。Epi：羊膜上皮層、Mes：羊膜間葉層

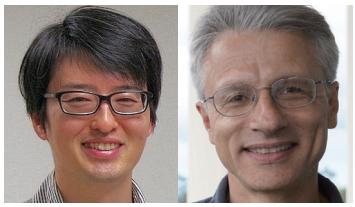
Science Signaling 10月11日号
RESEARCH ARTICLE

T. Sokabe *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 11 Oct 2022: Vol 15, Issue 755
DOI: 10.1126/scisignal.abl6179

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abl6179

光に反応して視細胞で産生される内在性カンナビノイドがショウジョウバエ（*Drosophila*）のTRPチャネルを活性化する

Endocannabinoids produced in photoreceptor cells in response to light activate *Drosophila* TRP channels



左から曽我部 隆彰、Craig Montell

曽我部 隆彰 Takaaki Sokabe
自然科学研究機構 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ 准教授

Craig Montell
Duggan Professor and Distinguished Professor, Department of Molecular, Cellular, and Developmental Biology, University of California, Santa Barbara

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

曽我部 隆彰　E-mail：sokabe@nips.ac.jp
所在地：444-8787 愛知県岡崎市明大寺町字東山5-1
U R L：https://www.excells.orion.ac.jp/research-group/thermal-biology

Craig Montell　E-mail：cmontell@ucsb.edu
所在地：University of California, Santa Barbara, CA 93106, USA
U R L：https://labs.mcdb.ucsb.edu/montell/craig/

Abstract

ショウジョウバエの複眼における光伝達は、一過性受容器電位（TRP）カチオンチャネルの活性化に至るシグナル伝達カスケードのモデルである。TRPおよびTRPLは、ロドプシンの光刺激と$G\alpha_q$およびホスホリパーゼCβ（PLC）の結合によって調節される古典的なcanonical TRP（TRPC）チャネルとして知られている。視細胞におけるTRPCチャネルの活性化には、PLCの下流で産生される脂質代謝物が不可欠である。われわれは、PLC刺激に続いて産生され、チャネルの活性化に寄与する主要な脂質を同定することを目指した。本研究では、遺伝学、脂質分析、ならびにCa^{2+}イメージングを用いて、光が、in vivoで豊富に存在する内在性カンナビノイドである2-リノレオイルグリセロール（2-LG）の量を増加させることを見出した。2-LG量の増加は、*norpA*と*inaE*によってそれぞれコードされるPLCとジアシルグリセロールリパーゼに依存していた。この内在性カンナビノイドは、異所性発現系および複眼から単離した個眼において、TRPC依存的なCa^{2+}流入を促進した。さらに、2-LGと機械的刺激は協調的に個眼のTRPCチャネルを活性化した。われわれは、2-LGが、視細胞においてTRPCチャネルを活性化する、生理学的に重要な内在性カンナビノイドであることを提唱する。

生命を支える感覚機能の仕組みと不思議を解き明かす

私たちの周りにあふれる無数の環境情報は、細胞膜に埋め込まれた様々なセンサーがキャッチし、細胞内に送り込み、生体機能の維持に役立てています。必要な情報を正確に取り込んで適切な環境を選び、環境に適応することは生存のための鍵であり、ヒトの健康に欠かせません。私たちの研究チームは、ショウジョウバエモデルを中心に、センサー分子とそれを取り囲む膜脂質との相互作用の観点から、感覚応答のメカニズムを追究しています。加えて、老化やストレスに伴う感覚機能障害の発生機序や、昆虫のセンサーを標的にした害虫防除戦略の開発など、応用を目指した研究にも取り組んでいます。
日本で感覚研究を盛り上げたいという意欲的な方からの連絡をお待ちしています（2名の外国人学生を受け入れ中）。

視細胞の光応答で働く内因性カンナビノイドの作用機構

光受容はあらゆる生物において、視覚や体内時計の調節などに関わる重要な感覚機能です。ショウジョウバエは複眼という光感受性の視細胞が集まった組織を持ち、光応答を容易に測定できることから、光情報伝達の研究に長らく用いられてきました。これまでの研究で、光刺激は、まずロドプシンと呼ばれる受容体で受け取られ、その後、様々なタンパク質や脂質の作用を経てTRPチャネルを活性化させることで、視細胞が応答することが分かっています。しかし、TRPチャネルを直接制御する脂質分子については、これまではっきり結論が出ていませんでした。

本研究では、光刺激を与えたときに視細胞で増加する脂質分子を捉えるために、光刺激を与えた直後のハエを液体窒素で急速冷凍することで視細胞の反応を止め、頭部に含まれる脂質成分を分析しました。その結果、内因性カンナビノイドに分類される2-リノレオイルグリセロール(2-LG)という脂質が光刺激で増加することを突き止めました(図1左)。一方で、光情報伝達に必須であるホスホリパーゼC(PLC)が欠損したハエでは、光刺激を与えても2-LGは増加しませんでした(図1左)。さらに2-LGは、PLCが産生するDAGを基質としてDAGリパーゼ(DAGL)という脂質分解酵素によって生じることを示しました。

2-LGの作用を解析するために数百ミクロンのハエの複眼を解剖して視細胞を集め、2-LGで刺激した結果、2-LGは正常な視細胞を活性化しましたが、2つのTRPチャネルを欠損した視細胞はほとんど活性化しませんでした(図1右)。この結果から、TRPチャネルの活性化には2-LGが重要であると考えられました。さらに2-LGは、DAG産生にともなう膜の変形と協調してTRPチャネルを活性化することを明らかにしました(図2)。以上の結果から、TRPチャネルはPLCによって産生されるDAGと、DAGが分解されて生じる2-LGの2つの脂質分子によって制御されると結論づけました(図2)。

本研究によって、光刺激がTRPチャネルへ情報伝達する新たなメカニズムが明らかになりました。DAGや内因性カンナビノイドなどの脂質分子によるTRPチャネルの活性制御は、他のシグナル伝達でも確認されています。今後、幅広い細胞内情報伝達やそれに関わる生理機能・病態の解明に役立つことが期待されます。

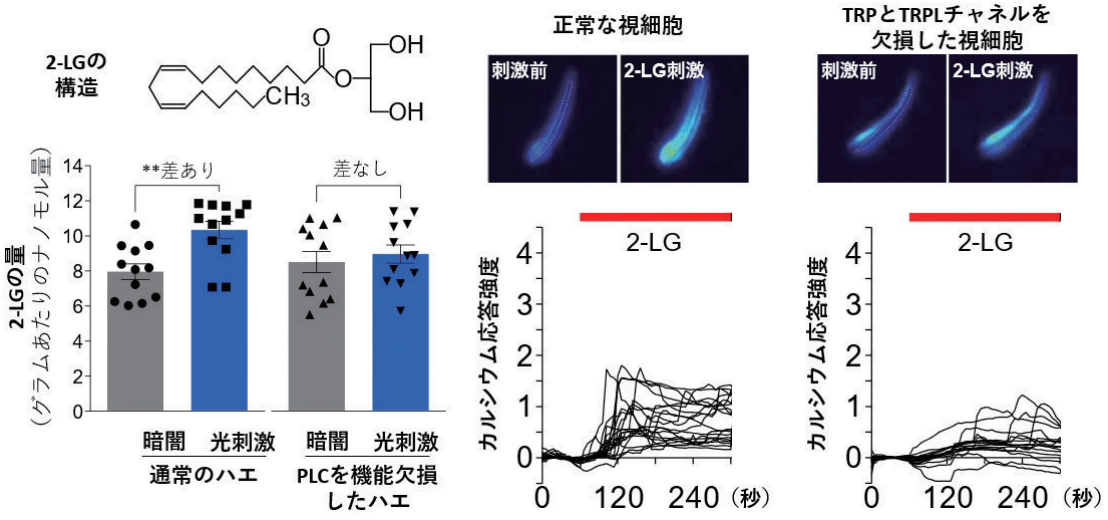


図1：光刺激で増加した2-LGは、視細胞のTRPチャネルを活性化する

(左)光刺激したハエの頭部からPLC依存的に増加する内因性カンナビノイド2-LGを同定した。
(右)単離した視細胞を2-LGで刺激すると、TRPとTRPLチャネルを発現する視細胞が強く応答した。

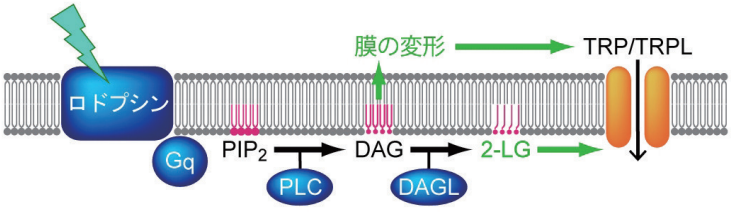


図2：光刺激の情報伝達経路

光刺激によってロドプシン、Gq、PLCが活性化し、DAGが生じる。DAGからDAGLを介して2-LGが産生される。DAGを介した膜の変形と2-LGによって、2つのTRPチャネルが活性化される。

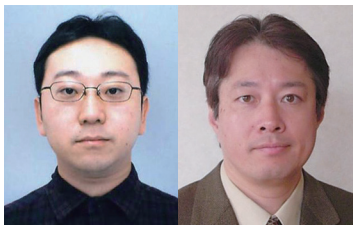
Science Signaling 11月1日号
RESEARCH ARTICLE

T. Murakami *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 1 Nov 2022: Vol 15, Issue 758
DOI: 10.1126/scisignal.abl5304

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abl5304

セマフォリン4Dは軟骨細胞の転写機構の再構築により関節軟骨の破壊と関節の炎症を誘導する

Semaphorin 4D induces articular cartilage destruction and inflammation in joints by transcriptionally reprogramming chondrocytes



左から村上 智彦、西村 理行

村上 智彦 Tomohiko Murakami
大阪大学 大学院歯学研究科 生化学教室 講師

西村 理行 Riko Nishimura
大阪大学 大学院歯学研究科 生化学教室 教授

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

Contact

村上 智彦
E-mail：murakami.tomohiko.dent@osaka-u.ac.jp
所在地：565-0871 大阪府吹田市山田丘1-8
ＵＲＬ：https://www.dent.osaka-u.ac.jp/biochem/biochem-2711

西村 理行
E-mail：nishimura.riko.dent@osaka-u.ac.jp
所在地：565-0871 大阪府吹田市山田丘1-8
ＵＲＬ：https://www.dent.osaka-u.ac.jp/biochem/biochem-2711

Abstract

炎症性サイトカインは関節疾患の病態形成に重要な役割を果たしている。われわれは質量分析に基づくクローニング法を活用し、軟骨破壊を直接促進する炎症性サイトカインとして、セマフォリン4D(Sema4D)を同定した。関節リウマチモデルにおいて、*Sema4d*欠損マウスは野生型マウスと比べ、軟骨破壊が緩和していた。Sema4Dは、マウス関節軟骨細胞において、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)やアグリカナーゼなどの軟骨分解に関わるタンパク質分解酵素の発現誘導を特徴とする、炎症応答を誘導した。関節軟骨細胞におけるSema4Dによる*Mmp13*および*Mmp3*の発現誘導は、RhoA(Sema4D誘導性の細胞骨格再編成を媒介するGTPアーゼ)に依存していなかった。その代わりに、この発現誘導は受容体Plexin-B2およびc-Metの下流に位置するNF-κBシグナル伝達およびRas-MEK-Erk1/2シグナル伝達を必要とし、転写因子であるIκBζおよびC/EBPδに依存していた。これらのSema4Dシグナル伝達経路を遺伝学的および薬理学的に阻害すると、軟骨細胞におけるMMP誘導および大腿骨骨頭の器官培養における軟骨破壊が阻害された。これらの結果から、Sema4Dのシグナル伝達が軟骨破壊を促進する機構が明らかとなった。

シグナル伝達・転写制御機構から運動器を科学し、アカデミック創薬を目指す

哺乳類の運動器は、骨、軟骨、関節、筋肉、靭帯腱などの組織から構成されています。私たちは、骨、軟骨、関節の形成機構、代謝制御、ならびに疾患の発症機序を、分子、細胞および個体レベルで解析し、得られた知見に基づいて、骨粗鬆症、関節リウマチ、変形性関節症に対する新規治療法の開発に結びつけたいと思い、研究を展開しています。特に、細胞内シグナル伝達機構、転写因子の制御機構およびエピゲノム機構を軸にプロジェクトを推進しています。また、ゲノム編集技術やオミクス解析も積極的に活用して、運動器の神秘の解明に挑戦しています。一緒に、チャレンジしませんか?

写真：研究室の送別会の様子

関節軟骨破壊を誘導するセマフォリン4D

超高齢社会を迎え、関節リウマチや変形性関節症などの関節破壊を伴う疾患が増加しています。特に関節軟骨は再生能や修復能に乏しいことから、その破壊は歩行障害などの重篤な病態に直結します。関節リウマチや変形性関節症などの関節軟骨の破壊には、自己免疫、機械的刺激、老化などによって生じる炎症が関与します。炎症時には、リンパ球、マクロファージ、滑膜細胞などが活性化し、炎症性サイトカインを産生します。この炎症性サイトカインは、関節軟骨を破壊する細胞外マトリックス分解酵素の発現を誘導し、関節疾患の発症と進行に深く関与します。そこで本研究では、関節軟骨の破壊と炎症に関与する、新規炎症性サイトカインの同定と分子作用機序の解明を目指しました。

炎症を誘導したマクロファージの培養上清に含まれるタンパク質を質量分析し、関節軟骨破壊作用を有するタンパク質を探索したところ、分泌型セマフォリン4D(Sema4D)を同定しました。Sema4Dは神経軸索ガイダンス因子であり、免疫系・骨代謝の制御にも関わることが知られていました。またSema4Dは、関節リウマチ患者の滑液中で上昇することも報告されていましたが、関節軟骨に対する直接の作用は報告されていませんでした。

関節軟骨に対するSema4Dの役割を調べるために、マウス関節軟骨表層細胞にSema4Dを作用させると、細胞外マトリックス分解酵素の発現が顕著に誘導されました。また、マウス関節軟骨器官培養にSema4Dを添加すると、関節軟骨組織が破壊されました(図1)。さらにSema4D欠損マウスは、関節リウマチモデルに対して抵抗性を示しました。続いて、Sema4Dが関節軟骨破壊を誘導するメカニズムを調べました。多くの場合、Sema4Dは細胞形態の制御に関わるRhoを介してシグナル伝達を行います(古典的経路)が、このRhoシグナルを阻害してもSema4Dによる関節軟骨破壊のシグナルは止められませんでした。解析の結果、関節軟骨破壊は、古典的経路ではなく、TRAF2-NF-κBから構成される、細胞膜から核へのシグナルによって誘導されることがわかりました(図2)。また、この非古典的Sema4Dシグナルを遺伝的あるいは薬理的に阻害することで、Sema4Dによる関節軟骨破壊が抑制できることも見出しました。以上の結果から、Sema4Dは関節軟骨細胞に直接作用し、関節軟骨破壊を誘導する炎症性サイトカインとして機能することが明らかとなりました。

今回見出した非古典的Sema4Dシグナル経路は、古典的Sema4D-Rhoシグナル経路とは異なることから、この非古典的経路を阻害することにより軟骨破壊を抑止できる、新規治療法の開発に応用できる可能性があります。非古典的Sema4Dシグナル経路を創薬ターゲットとして、軟骨破壊に対する阻害薬の開発につなげたいと考えています。

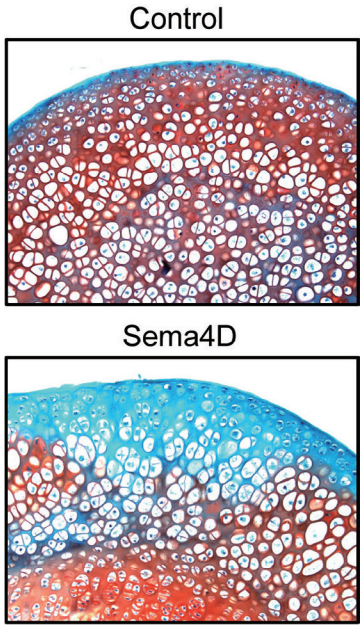


図1：関節軟骨の器官培養におけるSema4Dの効果

マウスから単離した大腿骨頭軟骨をSema4D有無で3日間培養した。培養した大腿骨頭軟骨の切片をSafranin O/Fast Green染色した。Sema4Dにより、赤色に染まる軟骨基質が脱落し、関節軟骨破壊が生じている。

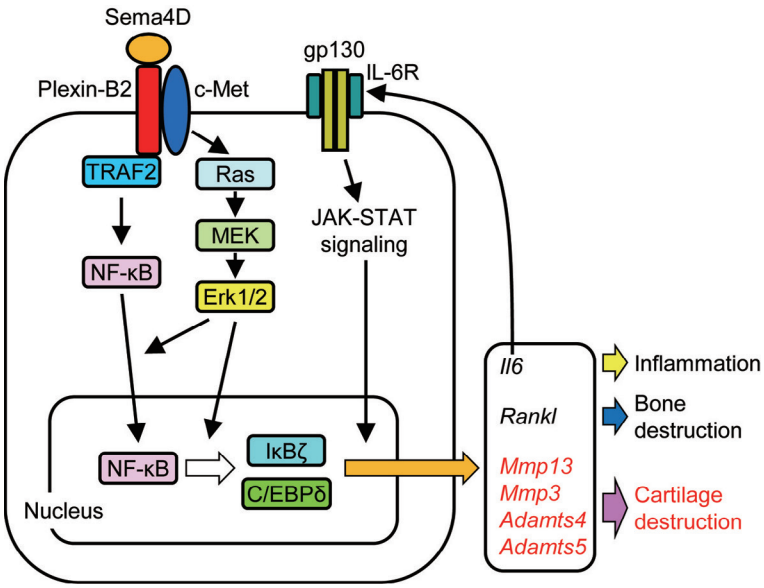


図2：非古典的Sema4Dシグナル経路の模式図

Sema4Dは、Plexin-B2-TRAF2-NF-κBとc-Met-MEK-Erk1/2シグナルの両方を活性化させる。NF-κBはIκBζとC/EBPδを転写誘導し、*Mmp13*と*Mmp3*の誘導に関与する。また、Sema4Dは*Adamts4*、*Adamts5*、*Il6*、*Rankl*を誘導する。Sema4DとIL-6は、相乗的に*Mmp13*と*Mmp3*を誘導する。

Science Signaling 11月1日号
RESEARCH ARTICLE

K. Abe *et al.*, *SCIENCE SIGNALING* 1 Nov 2022: Vol 15, Issue 758
DOI: 10.1126/scisignal.abn8017

オンライン版URL：https://www.science.org/doi/10.1126/scisignal.abn8017

ドキソルビシンはミトコンドリアDNAにインターカレートし、Alas1依存性にヘム合成を障害することによりフェロトーシスと心毒性を引き起こす

Doxorubicin causes ferroptosis and cardiotoxicity by intercalating into mitochondrial DNA and disrupting Alas1-dependent heme synthesis

左から阿部 巧、池田 昌隆、井手 友美、筒井 裕之

すべての論文著者についての情報は、右上URL/QRコードから原文でご確認ください。

阿部 巧 Ko Abe
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 博士課程

池田 昌隆 Masataka Ikeda
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 助教

井手 友美 Tomomi Ide
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 講師

筒井 裕之 Hiroyuki Tsutsui
九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学 教授

Contact 池田 昌隆 E-mail：ikeda-m@cardiol.med.kyushu-u.ac.jp 所在地：812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1
U R L：https://www.cardiol.med.kyushu-u.ac.jp/

Abstract

抗がん剤の一つであるドキソルビシンは、ドキソルビシン心筋症とされる心筋傷害（心毒性）を伴うことから、臨床でのがん治療における使用量が厳密に制限されている。われわれは、ミトコンドリアにおける鉄の過負荷と過剰な脂質過酸化によって引き起こされるミトコンドリア依存性フェロトーシスが、ドキソルビシン心毒性において重要な病態基盤であることを示してきた。本研究では、ドキソルビシンがミトコンドリアDNA（mtDNA）にインターカレートすることでミトコンドリアに蓄積し、mtDNA量依存性にフェロトーシスを誘導することを明らかにした。さらに、ドキソルビシンによりヘム合成経路の律速酵素である5'-アミノレブリン酸シンターゼ1（Alas1）の発現が減少することでヘム合成障害が生じ、ヘムへの鉄利用が障害された結果、心筋細胞のミトコンドリアにおいて鉄の過負荷とフェロトーシスが生じていることが明らかとなった。実際にAlas1の過剰発現は、ドキソルビシンによる一連の鉄過剰および過酸化脂質、そしてフェロトーシスを抑制した。さらにAlas1の生成物である5-アミノレブリン酸（5-ALA）を培養心筋細胞とマウスに添加・投与したところ、ヘム合成が促進されることで鉄過剰と脂質過酸化が抑制され、ドキソルビシンによるフェロトーシスとドキソルビシン心筋症を予防することが明らかとなった。これらの所見により、心筋細胞のミトコンドリアにおけるドキソルビシンと鉄の蓄積が協調してフェロトーシスを誘導することが明らかとなり、5-ALAがドキソルビシン心筋症の有望な治療薬であることが示された。

心血管疾患を理解し、その克服を目指す

心血管疾患の病態を理解し、克服するためには、細胞生物学、分子生物学のみならず、生理学、統計学、人工知能など、幅広い問題解決のための集学的なアプローチが必要です。私たちの教室では、これらの集学的アプローチによって、基礎・臨床の両面から心血管病の病態解明と治療法を模索し、また実践することで、よりよい社会への貢献を目指しています。

ドキソルビシンによる心毒性におけるフェロトーシスの機序を解明

アントラサイクリン系抗がん剤（代表薬剤：ドキソルビシン[DOX]）は、乳がん・卵巣がん・血液腫瘍など多くの癌腫に対する標準治療に用いられる抗がん剤です。しかしながら、投与量依存性に心臓機能障害（心毒性）を引き起こし、発症したアントラサイクリン心筋症は予後不良な疾患です。私たちは先行研究において、DOX投与下で鉄依存性に生じる過酸化脂質により誘導されるフェロトーシスがミトコンドリアを端緒として生じ、心毒性の主たる病態基盤であることを示しました（T. Tadokoro *et al.*, *JCI Insight* 2020; 5(9):e132747）。しかしながら、DOXによりフェロトーシスが誘導される機序は明らかでなく、治療法も確立していませんでした。

今回の研究では、1）DOXは鉄と複合体を形成し、形成された複合体は脂質二重膜に対して強い酸化能を示すこと（T. Miura *et al.*, *Pharmacol Toxicol* 1991;69:296-300）、2）DOXは二本鎖DNAに入り込む（intercalation）性質があること、3）鉄を活性中心とするヘムがミトコンドリアで合成されること、に着目しました。ミトコンドリアには核DNAとは異なる独自のミトコンドリアDNA（mtDNA）があり、1つのミトコンドリアに複数のmtDNAコピーを有します。DOXはこのmtDNAに入り込んでmtDNA量依存性にミトコンドリアに集積し、鉄との複合体を形成することで過剰な過酸化脂質を生成し、フェロトーシスを誘導していることが明らかになりました。

一方で、DOXは核DNAにも入り込み、DNA傷害および多様な遺伝子発現変化を引き起こすことで抗がん作用を示します。DOXにより多くの遺伝子発現が変化する中で、ヘム合成経路の律速酵素であるアミノレブリン酸合成酵素（Alas1）が著明に低下していることを見出しました。ヘモグロビンの中心体としてよく知られるヘムは、ミトコンドリアにおいてプロトポルフィリンIX（PpIX）に鉄が組み込まれることによって合成されます。DOXはAlas1の発現を抑制することでヘム合成を障害し、その結果ヘムに使用されなくなった鉄がミトコンドリア内に蓄積し、鉄過剰状態が生じていることが明らかになりました。実際にAlas1を過剰発現させたところ、DOXによる鉄過剰、過酸化脂質、そしてフェロトーシスが抑制されました。これらの結果を踏まえ、Alas1が合成するアミノレブリン酸（5-ALA）を添加・投与することにより、DOXによる鉄・過酸化脂質、そしてフェロトーシスを抑制することで、DOXによる心毒性（心機能障害）を予防し得ることを示しました。

本来、増殖能が高いがん細胞を標的とする抗がん剤が、「なぜ増殖能を持たない心筋細胞において優位に毒性を生じるのか」という疑問は、長年にわたり未解決の課題でした。本研究では、mtDNAコピー数が全臓器の中で最も多いという心臓（心筋細胞）の特徴が、心臓優位に毒性を引き起こす本態であることを明らかにしました。さらに、ミトコンドリアに鉄が蓄積する分子基盤の解明により、5-ALAがDOXによるフェロトーシスおよび心毒性を予防する治療法になり得ることが示されました。

日本を含む全世界でがん罹患患者数は増加し続けており、それに伴いアントラサイクリン系抗がん剤の使用も過去10年で2倍に増え（北米市場ベース）、今後もさらに拡大することが見込まれています。そのため、心毒性の予防法の臨床開発は喫緊の課題です。本研究の成果に基づく「アントラサイクリン系抗がん剤による心毒性抑制薬としてのアミノレブリン酸の研究開発」を進めることにより、最適ながん治療を実現できるとともに、心臓合併症を予防することでがん患者のQOLの改善が期待されます。

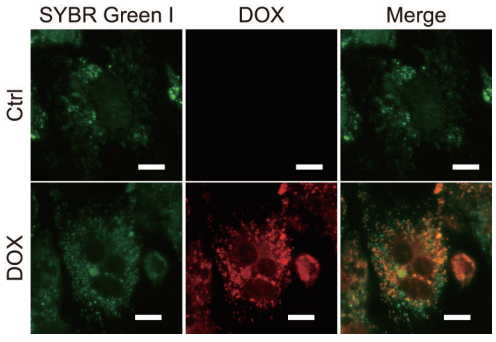


図1：ドキソルビシン（DOX）はmtDNAに集積する

mtDNAを低濃度SYBR Green Iにより特異的に染色し（緑色）、DOXの自家蛍光（赤色）を蛍光顕微鏡で観察した。DOXはmtDNAに一致して集積した。

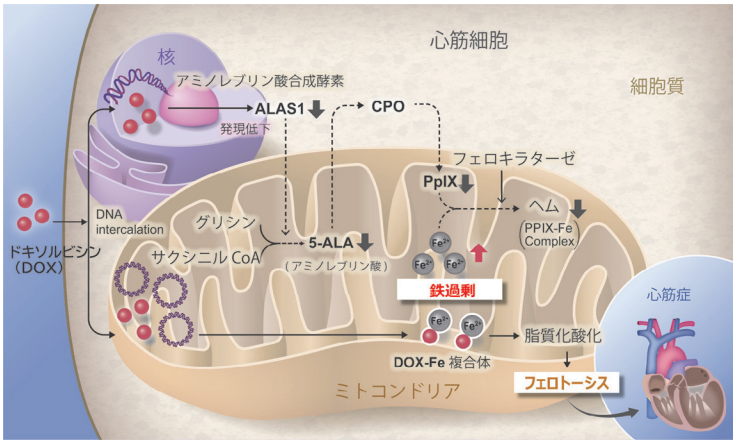


図2：ドキソルビシン（DOX）により生じるフェロトーシスの分子機序

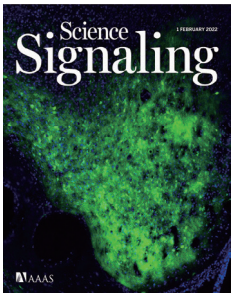
1）DOXがミトコンドリア（mtDNA）に集積、2）核DNAでの遺伝子変化としてAlas1の発現が低下、ミトコンドリアの鉄が増加、3）ミトコンドリアに蓄積したDOXと鉄がフェロトーシスを引き起こす。

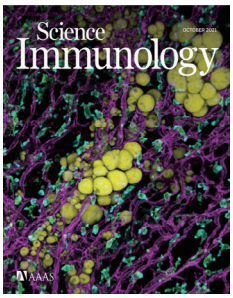
Science および姉妹誌の投稿規定

サイエンス誌(*Science*)および姉妹誌に投稿する前には必ず各誌のInformation for Authors(投稿規定)をご確認ください。投稿された著者は、われわれの使命の核となっている一連の編集/出版の方針に同意したものと見なされます。

*Science*の投稿規定は、ライセンス、利益相反、オーサーシップ、出版前の機密保持、データと資料の可用性、研究の完全性などのトピックをカバーしています。投稿規定のほとんどは全ジャーナルに共通のものですが、ジャーナルごとに独自の追加規定を設けている場合があります。

各誌に独自の方針と使命/範囲、ならびに投稿時の原稿の準備と提出および/またはレビューの指示に関する具体的な情報については、以下に掲げる各誌のQRコードでご確認ください。





AAASのオープンアクセス

米国科学振興協会(AAAS)とAAASが刊行する*Science*各誌は、著者に選択の権利を認めるべきだと考えています。科学界から情報(論文)を受け取り、公開する科学論文を正確に記録することに貢献し、その論文の全体的な公正性を保護するといったオープンアクセス(OA)に関する選択肢を提供すること(OAオプション)を、私たちは支持しています。

詳細は以下のURLまたはQRコードで確認ください。
https://www.science.org/content/page/open-access-aaas

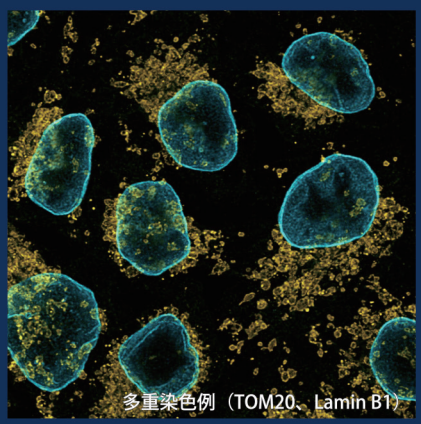
OPEN ACCESS
Pushing the Boundaries of Knowledge
As AAAS's first multidisciplinary, open access journal, *Science Advances* publishes research that reflects the selectivity of high impact, innovative research you expect from the *Science* family of journals, published in an open access format to serve a vast and growing global audience. Check out the latest findings or learn how to submit your research: **Science.org/journal/sciadv**
Science Advances
AAAS
GOLD OPEN ACCESS, DIGITAL, AND FREE TO ALL READERS

proteintech®

フレクサブル抗体標識キット

FlexAble

『FlexAble（フレクサブル）』は、プロテインテック独自の『CoraLite®（コーララィト）』蛍光色素を「高親和性リンカー」を介して標識するタイプの新しい抗体標識キットです。



《わずか 10 分間のプロトコール！》その手軽さが、あなたの探究をもっと自由にします。

セールス / テクニカルサポート
株式会社プロテインテック・ジャパン

国内販売
人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

キットの原理と使用例をホームページで公開中！

フレクサブル 抗体標識

Antibodies | ELISA kits | Proteins

✓ 探しま章 Web 検索データベース

100 万品目以上の品ぞろえ、主要な約 12,000 ターゲットの抗体を国内に在庫。

✓ 作りま章 抗体作製受託サービス

お客様とのコミュニケーションを大切にし、高い技術力であらゆるニーズに対応。

ファースト抗体

エピトープデザインからペプチド合成、
免疫までを安価にトライ

翻訳後修飾アミノ酸抗体作製

リン酸化を含む修飾アミノ酸に対する
ポリクローナル抗体を作製

カスタマイズ抗体

使用目的や実験条件に応じて
カスタマイズしたプランをご提案

モノクローナル抗体作製

成果保証の有無を選択可能、
成果品の権利はすべてお客様に帰属

抗体百科

抗体百科 Web版

「コウタイガー」「ペプチドン」は、コスモ・バイオのオリジナルキャラクターです。

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ　TEL: (03)5632-9610
URL : https://www.cosmobio.co.jp/

MEMO

コスモ・バイオは、

Science Signaling の

細胞シグナル伝達のトップジャーナル　— 米国科学振興協会（AAAS）発行 —

日本語サイトを 運営しています。

Science Signaling
AAAS

Science Signaling Japan brought to you by COSMO BIO
Signal Transduction Knowledge Environment

Science Signaling とは？

Cell Signaling（シグナル伝達）の先進的研究成果を発信する週刊の web ジャーナルです。
本誌は 1999 年に米国科学振興協会（AAAS）から *Signal Transduction Knowledge Environment*（STKE）として創刊され、2008 年からは「*Science Signaling*」に名称を変えて、シグナル伝達分野の最新情報を毎週お届けしています。

投稿受付中！
本誌に掲載の「*Science Signaling* 投稿について」もぜひご覧ください。

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

毎週水曜日更新
https://www.cosmobio.co.jp/ にて公開中