

Science Signaling

2016 Issue

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2015

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* 2015では、2015年の1年間にシグナリング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、シグナリング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、2016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
<http://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 Customer Service Office)
〒541-0046 大阪市中央区平野町 1丁目 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 東京本社
〒151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 2-9-9
TEL: 03-3405-0603 FAX: 03-3405-0653
<http://www.daishinsha.co.jp/>

発行日

2016年3月

© 2016 American Association for the Advancement of Science (AAAS). All Rights Reserved.

Science Signaling

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2015

シグナリングに載った日本人研究者

ご挨拶

米国科学振興協会 (AAAS) の公式刊行物である *Science Signaling* は、世界的な科学学術誌 *Science* の姉妹誌として、Cell Signaling (シグナル伝達) に関する先進的な研究成果を毎週発信しています。シグナル伝達の研究は単なる生物学の一領域という位置づけを超えて、あらゆるレベルでの生体制御機構に関する重要な知見をもたらし続けています。同誌は1999年に *Signal Transduction Knowledge Environment* (STKE) として創刊され、今に至るまで飛躍的な発展を遂げている生物学の基盤を支えてきました。

この「シグナリングに載った日本人研究者」は、「サイエンス誌に載った日本人研究者」の姉妹冊子として昨年刊行されました。本年の冊子には、2015年に *Science Signaling* で発表された9件の研究を紹介しています。誌面に掲載されたアブストラクトの翻訳に加え、それぞれの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。

さて、昨年のシグナル伝達研究の成果の中で最も重要なものとして *Science Signaling* の編集委員が選ぶ Signaling Breakthrough of the Year 2015 には、発がんを始めとする疾患の発症機序、細胞およびニッチにおける微小環境、動植物の異種間相互作用と自然免疫応答などのトピックが選ばれました。なかでも疾患との関連では、大村智氏がノーベル生理学・医学賞を受賞したことで記憶に新しいマラリアの治療について、耐性発現の機序が明らかになっています。この Signaling Breakthrough of the Year 2015 の全文を日本語訳で紹介しています。

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ご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。

2016年3月
編集チーム一同

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2015

シグナリングに載った日本人研究者

Science Signaling 投稿について 4

2016年1月5日号
Editorial Guide
2015: シグナル伝達のブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー 5
2015: Signaling Breakthroughs of the Year
Science writer based in USA Elizabeth M. Adler

3月17日号
Review
がんにおけるマイクロRNA 生合成と遺伝子発現抑制の調節不全 12
Dysregulation of microRNA biogenesis and gene silencing in cancer
Professor, Cardiovascular Research Institute, University of California, San Francisco 羽田 明子
Professor, Boston Children's Hospital and Department of Pediatrics, Harvard Medical School Judy Lieberman

5月5日号
Research Article
突起形成を伴うアクチン細胞骨格リモデリングは Hippo 欠損マウスの心臓の再生に不可欠である 14
Actin cytoskeletal remodeling with protrusion formation is essential for heart regeneration in Hippodeficient mice
Cardiomyocyte Renewal Lab, Texas Heart Institute
Department of Molecular Physiology and Biophysics, Baylor College of Medicine 森川 雪香

6月23日号
Research Article
IRE1 は病的状態下での小胞体膜透過と細胞死を阻止する 16
IRE1 prevents endoplasmic reticulum membrane permeabilization and cell death under pathological conditions
Samuel E. Schechter Professor of Medicine,
Departments of Internal Medicine and Pathology, Washington University School of Medicine 浦野 文彦
東京医科大学 基礎医学系 分子病理学分野 講師 金蔵 孝介

8月4日号
Research Article
ASK ファミリーキナーゼは 抗ウイルス応答時の I 型インターフェロン誘導とアポトーシスを使い分ける 18
The ASK family kinases differentially mediate induction of type I interferon and apoptosis during the antiviral response
東京大学大学院 薬学系研究科 分子生物学教室 助教 岡崎 朋彦

9月15日号
Research Resource
細菌のリン酸化プロテオームの系統的プロファイリングによって 細菌特異的なリン酸化の特徴を明らかにする 20
Systematic profiling of the bacterial phosphoproteome reveals bacterium-specific features of phosphorylation
京都大学大学院 薬学研究科 製剤機能解析学分野 日本学術振興会外国人特別研究員 林 妙霞
京都大学大学院 薬学研究科 製剤機能解析学分野 教授 石濱 泰

10月20日号
Research Article
メカノセンシング異常とコフィリンの活性化が マウス上行大動脈瘤の進行に關与する 22
Abnormal mechanosensing and cofilin activation promote the progression of ascending aortic aneurysms in mice
筑波大学 生命領域学際研究センター 助教 山城 義人
筑波大学 生命領域学際研究センター 教授 柳沢 裕美

10月27日号
Research Article
ゲノムワイド RNAi スクリーニングにより ショウジョウバエ成体において E3 ユビキチンリガーゼ Sherpa が Toll による 自然免疫シグナル伝達の仲介に關与することが明らかに 24
Genome-wide RNAi screening implicates the E3 ubiquitin ligase Sherpa in mediating innate immune signaling by Toll in *Drosophila* adults
東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野 博士課程 (現 東北医科薬科大学 機能病態分子学教室 博士研究員) 狩野 裕考
東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野 助教 (現 慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室 専任講師) 倉石 貴透
東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野 教授 倉田 祥一郎

11月24日号
Research Article
コータクチンの細胞内局在と活性は アセチル化および Keap1 との相互作用によって調節される 26
The subcellular localization and activity of cortactin is regulated by acetylation and interaction with Keap1
理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室 専任研究員 伊藤 昭博
理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室 主任研究員 吉田 稔

12月1日号
Research Article
複雑な G タンパク質選択性が G タンパク質共役型受容体の作用を決定する 28
Distinct profiles of functional discrimination among G proteins determine the actions of G protein-coupled receptors
Senior Research Associate, Department of Neuroscience, The Scripps Research Institute Florida 増保 生郎

Science Signaling 投稿について

Science Signaling は、Cell Signaling (シグナル伝達) を対象とした最先端の研究成果を取り上げる週刊の科学専門誌です。広範な分野の研究に重要な影響を与えるシグナル伝達について、最新の知見を取りまとめ、利用可能なデータとして提供することが本誌の主要な目的です。

以下に、*Science Signaling* の Information for Authors (投稿規定) の簡易日本語版を掲載します。あくまでこの記事は抜粋版であり、すべての規定を網羅しているわけではないことをご了承ください。投稿前には、後述のウェブサイトで、最新の完全版を必ずご確認ください。

掲載される論文・記事の種類

Research Articles : シグナル伝達に関する画期的な研究成果を発表する原著論文。主なテーマは細胞内/細胞間/生体内のシグナル伝達および関連する生体制御機構。構成はアブストラクト、本文 (Introduction, Results, Discussion, Materials and Methods, References, Notes)。Supplementary Material (SOM) を別途添付可。

Research Resources : Research Article に投稿された論文などの中から、新しい評価ツールや技術、データベース等を紹介する記事。投稿用原稿の規定については Research Article に準じる。

Perspectives : 最新の研究の進展について第三者の視点から分析する記事。

Focus : *Science Signaling* で発表された最近の論文に対するコメンタリー。

Reviews : シグナル伝達研究の新たな展開についての総説。発表後の修正が可能。読者の理解を容易にするため、教科書レベルで解説した「注釈 (gloss)」を適宜付ける。

Protocols : 著者独自の視点に基づいた研究の手法について、step-by-step で紹介する記事。

原稿の作成

以下の記述は *Science Signaling* 投稿の際に共通して適用される規定の一部です。規定の詳細については、上記の原稿の種類ごとに設けた Information for Authors のページを必ずご覧ください。

参考文献および注記 : 引用する順に番号を付す (本文、参考文献の本文、図表説明文、SOM の順)。発表前の論文や私信は含めない。番号は重複しないようにし、組み合わせたり、注記に参考文献を含めたりしないこと。op、cit、または ibid は使用しないこと。

図表 : すべて本文と同じファイルに含める。登場順に番号を付ける。

図説明文 (legend) : 本文と参考文献の間に記載。図中で

使用する用語、略語、記号および単位は、本文と揃えること。図のタイトルを1行目として記載。

表 : 本文を補足するものとし、同じ内容を重複して記述しないこと。登場順に番号を付ける。表説明文 (legend) の1文目は、記述的な短いタイトルとする。各カラムには見出しを付け、測定単位を括弧内表示。同一カラム内で単位を変更しないこと。

Supporting online material (SOM) : 印刷媒体では提供できない、論文の内容を補完するための資料。Materials and Methods、図表、ビデオまたは音声ファイルなど。各資料について簡単な説明を記載する。

ポリシー

Science Signaling に掲載される論文の著者に対し、AAAS は研究における貢献、論文の内容に対する責任、利益相反などについて適切な情報の開示を求めています。投稿の際には、関連する書類の提出が必要です。

Science Signaling における研究成果の発表に関するポリシーは、*Science* に準ずるものとします。

また出版倫理に関する事項については、Information for Authors のページを必ず投稿前にご確認ください。

投稿

Science Signaling では、オンラインで論文の投稿を受け付けています。ファイル形式等の詳細は論文・記事の種類ごとに定めています。

Science Signaling 投稿規定

Information for Authors (一般的な情報)

<http://stke.sciencemag.org/about/ifora>

Initial Submission Instructions (初回投稿原稿の作成)

http://stke.sciencemag.org/sites/default/files/ResearchArticle_Initial_0.pdf (PDF ファイル)

Science Signaling Authorship and Conflict of Interest Form

http://stke.sciencemag.org/sites/default/files/SciSignalAuthorshipform_0.pdf (PDF ファイル)

オンライン投稿システム

<https://cts.sciencemag.org>

論文投稿に関する問い合わせ先

Science Signaling Contact Information

E-mail: sigtrans-feedback@highwire.stanford.edu

<http://stm.sciencemag.org/feedback>

2015: シグナル伝達のブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー

2015: Signaling Breakthroughs of the Year

Elizabeth M. Adler^{1,*}

今年のシグナル伝達のブレイクスルーでは、がん、マラリア、神経変性疾患の発症機序または治療に関する知見を取り上げている。細胞死に関する分子的知見が明らかになり、植物寄生の予防、または微生物燃料電池としての細菌の改変に活用できる可能性のあるシグナルが同定された。

年1回のこの特集は、*Science Signaling* 編集委員が Board of Reviewing Editors メンバーから推薦された、前年のもっとも画期的な発見と有望な進展をまとめたものである。

2015年は、細胞シグナル伝達において刺激的な1年であり、多くのブレイクスルーがあった。(1) 巨大分子複合体のレベルから、細胞の微小環境との相互作用のレベルまで、空間的組織化が細胞シグナル伝達にきわめて重要であることが強調された。(2) がん、マラリア、神経変性疾患の発症機序または治療に関する知見が示された。(3) 特化した形の細胞死を仲介するタンパク質、寄生植物が宿主を発見できるようにするタンパク質、さらに、微生物燃料電池としての細菌の利用を可能にする経路に関与するRNA アプタマーが同定されている。この中から最も興味深いものを、この「シグナル伝達のブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー」第14版で紹介する。

2015年は、発がん、異種間相互作用 (病原性、良性ともに)、細胞シグナル伝達の機能的微小解剖学に関する新たな知見が特に目立った。細胞シグナル伝達の「微小解剖学」は、細胞が特定のニッチで生存できるようにする形態学的適応から、シグナル伝達分子の細胞内区画化および空間的組織化や、タンパク質および巨大分子シグナル伝達複合体の構造生物学まで、さまざまなレベルでの検討を可能にする。メンバーの一人である Kevin Janes が推薦した RAB35 が発がんにも果たす役割の同定に関する研究には、発がん、細胞内組織化が細胞シグナル伝達経路の最適な活性化に果たす重要な役割という2つのテーマが含まれている。種々の増殖因子受容体の下流で活性化される、クラス I ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K)-Akt シグナル伝達経路が、数多くのがんの発症機序に関与するとされている。Wheeler ら (1) は、逆遺伝学的スクリーニングを用いて、エンドソーム輸送に関与する低分子グアノシントリホスファターゼ (GTPase) の RAB35 が、

PI3K-Akt 経路のこれまで知られていなかった活性化因子であることを突き止めた。RAB35 の活性化変異は、ヒトのがんにみられる変異も含めて、この経路を介する恒常的シグナル伝達を引き起こし、増殖因子枯渇後のアポトーシスから細胞を保護し、PI3K 依存性の細胞形質転換を仲介した。発がん性 RAB35 は、血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) の恒常的活性化と、そのリガンドなしでのリソソームへの局在化を促進することから、RAB35 を介する発がんは、膜輸送の攪乱によって特異的に生じるという興味深い可能性が生じた。Janes が推薦に際して述べたように、「これらの結果は発がんに新たな光を当て... (中略) この研究では、がんの細胞生物学が細胞周期の誤制御を超えて拡大することが強調されている」。

Klaus Okkenhaug は、PI3K やエンドソームの研究の異なる背景を推薦した。2015年のノーベル生理学・医学賞はマラリア治療のためのアルテミシニンの発見も含め、寄生虫症に対する新規治療法に対して授与された。Okkenhaug が推薦したのは、アルテミシニンが熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の PI3K の阻害剤として作用し、PfPI3K ポリエピキチン化を低下させる Pfk1ch13 変異が、アルテミシニン耐性を付与することを示した、Mbengue らの研究であった (2)。ポリエピキチン化の低下とその結果生じる PfPI3K タンパク質分解の減少によって、PfPI3K 存在量が増加し、それによりホスファチジルイノシトール-3-リン酸 (PI3P) の産生が増加した。アルテミシニンに対する耐性が出現し始めているため、アルテミシニンが PfPI3K 阻害剤であると同定されたこと、そして、PI3P 増加がアルテミシニン耐性に関与することが確認されたことは、マラリア制圧のための新たな手法の開発につながる可能性がある (図 1)。PfPI3K の構造はまだ決定されていないが、細胞内膜輸送に関与する巨大分子複合体に含まれる脂質キナーゼである、クラス III PI3K Vps34 (液胞タンパク質選別 34) のパラログである。Rostislavleva ら (3) は、酵母から Vps34 複合体 II の 4.4 Å 結晶構造を得て、質量分析により、膜結合に伴うコンホメーション変化を同定し、その機能に関する推定機構を提供した。Okkenhaug は、「内膜のホスファチジルイノシ

¹ Science writer based in USA.

* Correspondence. E-mail: sciencesignalingeditors@aaas.org

トールを3-リン酸化するように適応したY形のタンパク質集合体を示す、Vps34エンドソーム複合体IIの驚くべき構造」決定を、2番目に推薦した。

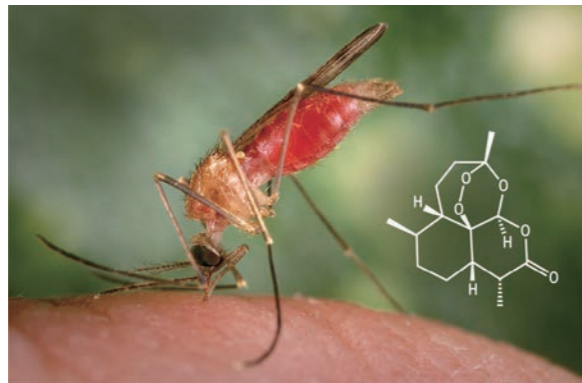


図1 マラリアに対するアルテミシニン

Okkenhaugは、マラリアとマラリアに関連するがんである地方病性パーキットリンパ腫の治療における、アルテミシニン(化学式で示されている)の分子的機構に関する研究を推薦した。

PHOTO CREDIT: J. GATHANY/CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

Katsuhiko Mikoshibaは、ほぼ原子分解能での巨大分子構造を明らかにすることによって、細胞シグナル伝達の分子的機構を知る手がかりをもたらしたことに着目した。イノシトール-1,4,5-三リン酸受容体(IP3R)とリアノジン受容体(RyR)は、小胞体および筋小胞体における細胞内ストアからのカルシウム放出を仲介することによって、サイトゾルカルシウムに調節される数多くの生理的および病態生理学的過程に重要な役割を果たす。これらの受容体は巨大であるため(IP3R約1.3メガダルトン、RyR約2.2メガダルトン)、これらの四量体イオンチャネルの高分解能構造を得ること、またそれによって詳細な構造機能解析を行うことは、きわめて困難となっている。Mikoshibaが「素晴らしい業績」と讃え、推薦したのは、低温電子顕微鏡(cryo-EM)を用いて、1型RyR[Efremovら、Yanら、Zalkら(4-6)]および1型IP3R[Fanら(7)](図2)の高分解能構造を得た、4つの別々のグループによる画期的な研究である。カルシウム放

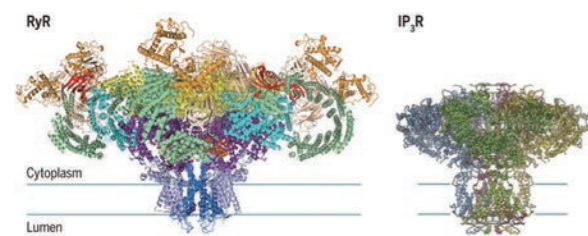


図2 RyRおよびIP₃RのCryo-EM構造

Mikoshibaは、これら2つの細胞内カルシウムチャネルの高分解能構造を報告した研究を推薦した。

CREDIT: (LEFT TO RIGHT) REPRINTED WITH PERMISSION FROM MACMILLAN PUBLISHERS LIMITED: NATURE (5), ©2015; NATURE (7) ©2015

出チャネル機能の機構的基礎に関する知見をもたらしただけでなく、cryo-EM技術の最近の進歩に伴って、詳細な3次元構造情報が得られる大きな可能性を明らかにしている。

構造解析によって、巨大分子の機能の分子的基礎に関する多くの知見を得ることが可能である。しかし、難問が生じることもある。例えば、Henrik Dohlmanが2件の推薦の1件目で指摘したように、抗腫瘍薬イマチニブは、チロシンキナーゼAblに対する高度選択的阻害剤であるが、近縁関係にあるキナーゼSrcに対しては、これら2つのチロシンキナーゼのイマチニブ結合構造はほぼ同一であるにもかかわらず、阻害作用をもたない。Dohlmanが推薦したのは、イマチニブの特異性の基礎をなす機構を同定したことにより、特異性の高い新規抗腫瘍薬の今後の設計に有望な、Wilsonら(8)の研究であった。Ablはイマチニブに結合しないコンホメーションで存在できることに気付いたWilsonらは、イマチニブによる阻害に対して中間的感受性を示す、これら2つのキナーゼの共通の祖先と、鍵となる進化上の中間体を再構築した。祖先キナーゼの解析により、アミノ酸15個がイマチニブのAblに対する特異性の決定に重要な役割を果たすことが明らかになり、この特異性は、薬剤の結合後に生じるコンホメーション変化の速度と、その結果生じる、阻害剤が結合したコンホメーション状態と結合していないコンホメーション状態のあいだの平衡の移動に依存することが示された。

Okkenhaugは、マラリアの原因として悪名高いだけでなく、発がん、とくに地方病性パーキットリンパ腫の発症とも関連付けられている寄生虫である、マラリア原虫(*Plasmodium*)を最後に推薦した。さまざまなB細胞リンパ腫は、免疫表現型、随伴する遺伝的病変、臨床所見、異なる発生段階のB細胞との対応関係などの特徴によって、区別される。しかし、リンパ腫の表現型を左右する因子や、さまざまな型の疾患の病因とのそれらの関連性は不明である。地方病性パーキットリンパ腫は、*c-MYC*を免疫グロブリン遺伝子座に連結させる染色体転座を特徴とする、進行性の高いリンパ腫であり、赤道アフリカでもっとも頻度の高い小児悪性腫瘍である。その他いくつかの型のリンパ腫と同様に、地方病性パーキットリンパ腫はエプスタイン・バーウイルス感染と関連がある。しかし、独自の特徴として、マラリアとも関連している。この研究は、マラリア原虫がリンパ腫形成を修飾してパーキットリンパ腫を生み出す仕組みを明らかにするものである。同族抗原の曝露によってB細胞の胚中心への遊走が刺激され、B細胞は胚中心で速やかに増殖するとともに、免疫グロブリンがクラススイッチ組換えと体細胞超変異を起こす。

Robbianiら(9)は、マウスモデルを用いて、マラリア原虫の慢性感染により、活性化誘導シチジンデアミナーゼ(AID)、クラススイッチ組換えと体細胞超変異に関与する変異誘発酵素)を発現し、広範な染色体転座を有する、胚中心B細胞の集団が顕著に増殖することを突き止めた。マラリア原虫感染は、B細胞の腫瘍抑制因子p53を欠損したトランスジェニックマウスにおいて、リンパ腫形成に必要ではなかったが、感染により、染色体転座を有するAID依存性成熟B細胞リンパ腫の発生に有利な表現型変化が引き起こされ、このことは、マラリアの地方病性パーキットリンパ腫との関連に一致した。

発がんのドライバーはゲノム変異だけではない。発がんに関する知見をもたらしたとして推薦された研究からLi Maが選択したのは、発がんおよびがん細胞の多様性と治療感受性における、アデノシンからイノシンへのRNA編集—広範に認められる転写後修飾—の役割を明らかにした、異なるグループによる3報の論文であった。Maが述べたところによれば、Fumagalliら(10)、Hanら(11)、Paz-Yaacovら(12)の研究は、「RNA編集により、がんにおいて、体細胞変異と同様のレベルで、アミノ酸変化を導入できる」ことを示すことによって、ゲノム変異パラダイムの優位性に疑問を投げかけている。

Maが2番目に推薦したのは、グルコース飢餓に応答して生じた細胞のエネルギーストレスが、Hippo経路の下流エフェクターであるYAPの活性を調整することを示した2報の論文であった。Hippo経路は、発達中の組織増殖の制限に重要な役割を果たす腫瘍抑制経路であり、種々のがんにおいて調節不全に陥っている。Hippo経路を介するシグナル伝達は、細胞増殖の促進とアポトーシスの抑制に関与する遺伝子のの上流にある転写コアクチベーターであるYAPの活性を阻害する。Moら(13)とWangら(14)は、グルコース除去によってYAP活性が阻害され、AMP/ATP比高値(エネルギーストレスの状態)によって活性化されるAMP依存性プロテインキナーゼが、その効果の重要なメディエーターとなることを示した。無制御な増殖を支持するように代謝を再プログラムすること—Otto Warburgによって初めて報告された現象—は、悪性表現型の顕著な特徴であると考えられ、興味深いことに、YAPは解糖を促進した(14)。YAPのこのような発がん性と考えられる機能は、これまでに知られておらず、少なくとも部分的に、グルコース輸送体の転写の増加に依存する可能性がある。がんによる死亡の多くが、遠隔部位に転移した疾患に関連している。そのような転移病変の発生は、腫瘍細胞が標的部位の細胞にコロニーを形成し、適応して、共進化することができるかどうかによって依存する。しかし、不慣れた微小環境で転移を成立

させる、腫瘍細胞とそれらの標的部位との正確な相互作用は、明らかにされていない。Maが最後に推薦したのは、腫瘍細胞の増殖の促進における転移ニッチの役割を検討したZhangら(15)の研究であった。Zhangらは、脳転移性のがん細胞において、エクソソームと呼ばれる小さな膜結合小胞にアストロサイトマイクロRNAを導入すると、腫瘍抑制因子PTENの可逆的な喪失が生じることを示した。転移性腫瘍細胞におけるPTENの喪失により、ケモカインCCL2の分泌が増加し、骨髄細胞が動員され、続いてがん細胞の増殖が促進され、アポトーシスが低下することによって、腫瘍細胞の新生が促進される。注目すべき点として、アストロサイトからのエクソソーム放出を阻害する、または、PTENを標的とするアストロサイトマイクロRNAを選択的に枯渇させると、脳転移性増殖が抑制された。したがって、腫瘍細胞とその微小環境の互恵的相互作用を阻害することが、脳に転移したがんを治療するための新たな手法となる可能性がある。エクソソーム供与体と受容体の役割を逆転させた、Hoshinoら(16)の研究では、がん細胞から放出されるエクソソームが、それに続く転移性腫瘍細胞による臓器特異的なコロニー形成の道を開く手助けをすることが示された。特定の臓器を標的とする傾向がある腫瘍由来するエクソソームは、それらの特異的なインテグリンによって決定された形で、適切な標的組織に融合し、転移の準備を整えた(図3)。エクソソームによって、実験的に、腫瘍細胞の転移の方向を異なる標的組織に変えることも可能であった。例えば、肺を標的とするエクソソームは、通常であれば骨に転移する腫瘍細胞の肺転移を促進した。細胞・ニッチ相互作用の微小解剖学が、生理的条件下での、さらには転移における、細胞シグナル伝達にきわめて重要な役割を果たすことは、ショウジョウバエ(*Drosophila*)雄生殖系列幹細胞ニッチにおける自己複製シグナルの制限に関する研究で明らかにされている通りで

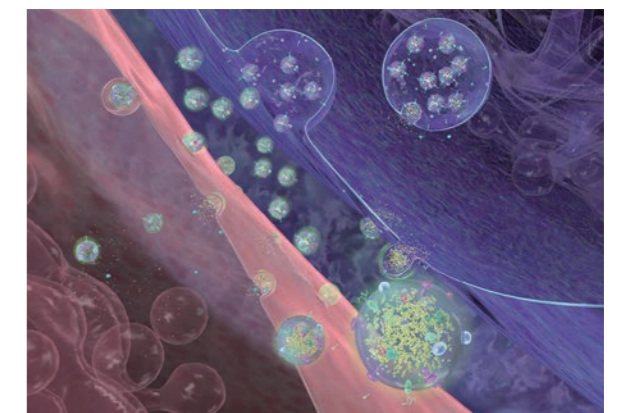


図3 がんの転移におけるエクソソーム

Maは、エクソソームが腫瘍の転移を促進する仕組みを説明した研究を推薦した。

CREDIT: T. OCHIYA/NATIONAL CANCER CENTER, TOKYO, JAPAN

ある。ショウジョウバエ精巣の生殖系列幹細胞は、体細胞の「ハブ」細胞から放出されるリガンドに応答して、自己複製を起こす。毎回の分裂で、分化を起こす娘細胞も産生される。

自己複製シグナルが生殖系列幹細胞に感知され、分化を運命付けられた細胞—わずか1細胞の幅しか離れていない—には感知されないことを説明する機構は、不明である。これを「細胞構造が受容体・リガンド相互作用を調節する仕組みの見事な一例であり... 幹細胞とそのニッチとの相互作用や、シグナル伝達経路活性化の空間的組織化に関するわれわれの理解に役立つ」とみなし、Norbert Perrimon は、生殖系列幹細胞から突出してモルフォゲン Dpp による刺激を可能にする、ナノチューブの存在を明らかにした、Inaba ら (17) の研究を推薦した。Dpp の受容体を有するこれらのナノチューブは、Dpp シグナル伝達と生殖系列幹細胞の維持に不可欠であり、ハブ内に伸展することにより、生殖系列幹細胞が自己複製に必要な高濃度のリガンドにアクセスすることを可能にした。細胞は、外部シグナルを検出する必要があるのと同様に、損傷した細胞内小器官や不適切に機能するタンパク質の存在などの、内部シグナルを検出することも必要である。損傷したミトコンドリアは、マイトファジーとして知られる選択的オートファジーの過程によって排除される。マイトファジーにおいては、損傷したミトコンドリアがオートファジー受容体によってオートファゴソームに向けられ、破壊される。Reuben Shaw が推薦した、Lazarou ら (18) と Heo ら (19) の論文からは、マイトファジーを引き起こす機構に関するモデルの修正が求められており、まったく異なるニューロン集団を攻撃する2つの神経変性疾患であるパーキンソン病と筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の、興味深いつながりが示されている。いずれの論文からも、いくつかの型のパーキンソン病に関連する変異をもつタンパク質である、PINK1 と Parkin の活性化によって、オートファジー受容体の動員が促進されマイトファジーが仲介される機構に関する新たな知見もたらされ、マイトファジー機構の障害が、複数の神経変性疾患に関与する可能性が示唆されている。Shaw はこの複雑さを増すストーリーを次のように説明している。「これら2報の論文では、興味深い新たな調節機構において、ミトコンドリアでの PINK1-Parkin を介するユビキチン鎖の会合が、... オプチニューリン (OPTN) などのオートファジーアダプターの動員を誘発し、OPTN はセリン-トレオニンキナーゼ TBK1 に同時に結合し、続くマイトファジーを促進することが見出されている。注目すべき点として、TBK1 と OPTN は、ALS (ルー・ゲーリック病) 患者において変異していることが最近見出されており、遺伝型の同神経変性疾患と、パーキンソン病において変異している Parkin のあいだの、直接的な生化学的関

連性が示された。ユビキチンを介するタンパク質の動員によって、ミトコンドリアでのその後の局所的キナーゼシグナル伝達が誘発されるという新規性と、別個の神経変性疾患において変異している遺伝子の関与とのあいだで、これらは数多くの新たな研究への扉を開く、画期的な発見である」。

今回注目された主要なテーマは、異種間の相互作用、特に病原体が関わるものに関係しており、George Dubyak, Jen Sheen, John Silke, Cyril Zipfel が、動植物の自然免疫応答に関する研究を推薦した。インフラマソームとして知られる複数のタンパク質からなるシグナル伝達複合体の活性化とともに、炎症性カスパーゼによって誘発される、調節された形の溶解性の細胞死であるピロトーシスは、微生物病原体に関連する細胞内の危険シグナルに対する哺乳類の自然免疫応答の鍵となる構成要素である。

George Dubyak と John Silke の両者は、ピロトーシスのきわめて重要なメディエーターとして機能するカスパーゼ標的として、ガスダーミン D が同定されたことを推薦しており、Silke は、この発見は「この分野への影響という点で、MLKL がネクローシスのエフェクターであるという発見に匹敵する可能性が高い」とコメントした。Kayagaki ら (20) と Shi ら (21) は、これまで機能が不明であった細胞質タンパク質ガスダーミン D が、炎症性カスパーゼによって切断されて自己抑制を解除され、ピロトーシスを仲介する N 末端フラグメントを放出することを発見した。ピロトーシスは、炎症性サイトカインの放出に関連し、細胞内の細菌を排除して破壊を可能にすること、AIDS における CD4⁺ T 細胞の枯渇、化学療法中の白血球減少、内毒素性ショックなどの異なる過程に関与している。したがって、ガスダーミン D がピロトーシスのメディエーターとして同定されたことは、橋渡しとして大きな意義をもつ可能性がある。さらに、この研究の意義は、ピロトーシスを超えて広がる可能性がある。Dubyak の仮説の通り、「過剰発現した変異ガスダーミン A3 またはガスダーミン A3 の N 末端ドメインがミトコンドリアに結合し、ミトコンドリア機能障害、ROS (活性酸素種) 蓄積、オートファジー関連死およびネクローシスの特徴をもつ細胞死を引き起こす (22, 23)」。このことから、ガスダーミンは、さまざまな種類の調節された細胞死に普遍的に関与することが示唆される。

植物も病原体の攻撃を受け、動物と同様に、植物自然免疫応答には、表面受容体と細胞質受容体の両方が関わっている。植物自然免疫応答に関与する細胞内のヌクレオチド結合ロイシンリッチリピート受容体は、構造的にも機能的にも、動物のインフラマソーム活性化に重要な役割を果たす Nod 様受容体 (NLR) と類似している。植物 NLR は、細

胞膜に局在する免疫受容体によって引き起こされる植物の防御を対象とする場合が多い、病原体由来の毒性因子 (エフェクター) を検出する。植物 NLR はペアで機能することができ、両パートナーが免疫応答の活性化に必要とされる。Cyril Zipfel は、「免疫受容体が働く仕組みに関するわれわれの理解のパラダイムシフト」であると表現した研究の中で、エフェクター検出の興味深い新方式を説明した3報の論文 (24-26) を推薦した。Le Roux ら (24) と Sarris ら (25) は、宿主標的を模倣する「デコイ」または「センサー」ドメインの組み込みによって、病原性因子が植物 NLR ペアの片方におびき寄せられ、その結果パートナーの NLR が活性化されて防御シグナル伝達が開始される仕組みを示した。このテーマに関する3報目の画期的論文では、Maqbool ら (26) が、エフェクターと、異なるクラスの組み込みドメインとの相互作用の構造的根拠を特定し、免疫を活性化させるためには、NLR ドメインとエフェクターのあいだの高い結合親和性が必要であることを示した。これらの論文から浮上したテーマは、病原体の毒性因子が免疫応答の最初の波を損なうことを可能にするまさにその機構が、自らを破壊するほうに転じているということである。

ヘテロ三量体グアニンヌクレオチド結合タンパク質 (Gタンパク質) と Gタンパク質シグナル伝達が、植物自然免疫応答に関与するとされている。さまざまな意味で、植物における Gタンパク質シグナル伝達は、動物のものと同様である。しかし、興味深い差異もいくつか認められる。例えば、植物の Gタンパク質は自己活性化し、GPCR に頼ることなく GTP 結合状態に達する。Jen Sheen は、植物には1つしか Gα がいないことに注目し、植物自然免疫応答 (27) およびストレスシグナル伝達 (28) における、Gタンパク質シグナル伝達の新たな配線パターンを同定した研究を推薦し、「これら2報の論文によって、すべての真核生物の Gタンパク質シグナル伝達が解明される可能性がある」とコメントした。1報目の研究では、Cheng ら (27) が、植物と動物の両方に作用する病原細菌である、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) から分泌されるプロテアーゼによって開始される免疫経路を同定した。この経路では、足場タンパク質 RACK1 (活性化 C キナーゼ受容体 1) が、Gβ と、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) カスケードの全3層に結合し、Gタンパク質シグナル伝達の下流で、MAPK シグナル伝達を活性化させた。プロテアーゼ活性化経路における Gタンパク質の役割は、病原体関連分子パターンに対する古典的な植物免疫応答における役割とまったく異なり、植物は、病原体によってコードされたプロテアーゼに応答する異なる経路を進化させていることが示唆された。ストレス応答における Gタンパク質シグナル伝達に関する2報目の研究では、Ma ら (28) が、イネ Gα と相互作用す

る COLD1 (CHILLING-TOLERANCE DIVERGENCE 1) を同定した。さらに、COLD1 の一塩基多様性によって、Gα の GTPase 活性を加速させ、イネのジャポニカ (*japonica*) 亜種に耐寒性を付与するタンパク質の一種が生じた。もちろん、すべての異種間相互作用が自然免疫応答で構成されているわけではない。Sheen は、最後の推薦において、寄生植物が宿主を検出する仕組みに関する一連の論文に注目した。生長と発育に関与する植物ホルモン群であるストリゴラクトンは、土壤中にも放出され、共生する菌根菌にシグナルを送る。しかし、土壤中の微量のストリゴラクトンは、作物を壊滅させることもある寄生雑草であるストライガ (*Striga*) の休眠種子の発芽も刺激する (図4)。Sheen が推薦した Conn ら (29)、Tsuchiya ら (30)、Toh ら (31) の研究は、ストライガのストリゴラクトン受容体の進化、特性、構造を調べたもので、ストリゴラクトンへの極端な感受性に関する知見をもたらすと同時に、この有害な寄生雑草の制圧の達成に希望を与えた。

異種間相互作用には、双方の種にとって有益なものもある。Dohlman は、腸内微生物叢とその哺乳類宿主に関連する研究を推薦した。セロトニンは、脳内の神経伝達物質としての役割がもっともよく知られているが、哺乳類のセロトニンの90%以上は腸で産生され、Yano ら (32) が発見したように、腸におけるセロトニン合成は、芽胞形成細菌が産生する代謝物によって刺激される。さらに、セロトニンの微生物依存性の増加は、宿主の消化管運動と血小板機能に影響を及ぼした。Dohlman によると、「ヒトの遺伝子は、マイクロバイオームの遺伝子よりもはるかに少ない。最近の研究では、腸内細菌が免疫機能や腸管系の神経細胞の機

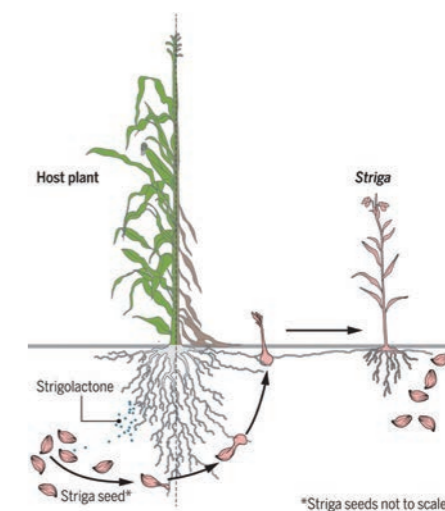


図4 寄生雑草ストライガ (*Striga*)
Sheen は、ストライガのストリゴラクトン受容体の進化、特性、構造に関する研究を推薦した。
CREDIT: P. HUEY/SCIENCE

能に影響を及ぼしうることが示されている。Yanoらの論文では、腸内微生物に由来する代謝物が、神経伝達物質であるセロトニンの産生に影響を及ぼすことが示された。これらの代謝物は、腸クロム親和性細胞に作用し、律速的なセロトニン合成酵素であるTPH1(1型トリプトファン水酸化酵素)の転写を誘導すると考えられる。注目すべきことに、セロトニン拮抗薬および作動薬が、さまざまな胃腸疾患の治療に臨床的に用いられている。これらの結果は、微生物による宿主シグナル調節の顕著な例を示している」。

微生物叢との共生的相互作用から、病原性の相互作用まで、微生物の調節過程を理解することは、ヒト生物学のさまざまな側面に重要である。合成生物学者は、微生物のシグナル伝達経路に関する詳細な知識を利用して、環境に利益をもたらすことも可能である。Ute Römlingが推薦した研究においては、これら両方のテーマがはっきりと表れている。広範に分布する細菌性セカンドメッセンジャーであるサイクリック二量体(3'→5')GMP(サイクリック di-GMP)は、25年以上前に、細菌のセルロース合成酵素のアロステリックな活性化因子として同定され、Römlingが指摘したように、当時でさえ、2分子のGMPへの分解には、別個の2段階が必要であることを、科学者は理解していた。分解の第1段階で、サイクリック di-GMPを加水分解して直線化された5'-phosphoguananylyl-(3',5')-guanosine(pGpG)を形成するホスホジエステラーゼは、少し前に同定された。しかし、pGpGを加水分解して2分子のGMPを生成するホスホジエステラーゼの正体は、謎のままであった。Römlingが最初に推薦したのは、Cohenら(33)とOrrら(34)の2つのグループによる、mRNAの代謝回転に機能すると考えられるオリゴリボヌクレアーゼOrnが、緑膿菌pGpGの主要な分解酵素であるという発見であった。推薦に際してRömlingは、曖昧であった第2のホスホジエステラーゼとしてOrnが同定されたことで、サイクリック di-GMPシグナル伝達経路のより詳細な解析が可能になるだけでなく、pGpGは独立したシグナル伝達分子として作用するという仮説の検証も可能になることを指摘した。サイクリック di-AMPは細菌のセカンドメッセンジャーでもあり、最近では、サイクリック AMP-GMPが、コレラを引き起こす細菌の病原性に関与するセカンドメッセンジャーとして同定された。Römlingが2番目に推薦したのは、Kellenbergerら(35)とNelsonら(36)による、サイクリック AMP-GMP受容体はリボスイッチであるーリガンド結合によって活性化され、関連遺伝子の転写または翻訳を調整する非コードRNAドメインであるーという同定であった(図5)。興味深いことに、サイクリック AMP-GMPは、ジオバクター(*Geobacter*)種による外部電気発生に関与する遺伝子の調節を仲介するリボスイッチに結合することが、両グループによって見出された。この過程は、

環境金属の低減に関わり、毒性金属浄化とエネルギー産生の両方に応用できる可能性がある。

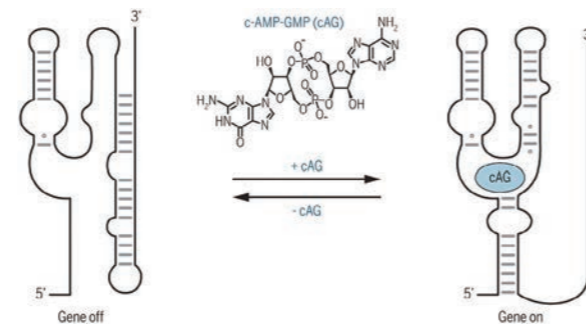


図5 サイクリック AMP-GMP の受容体
Römlingは、細菌のシグナル伝達分子が、リボスイッチとして機能する非コードRNAに結合することを示した研究を推薦した。図は(35)より。
CREDIT: H. MCDONALD/SCIENCE SIGNALING

今年の推薦は、本誌の幅広い関心を反映して、ヒトの疾患から、農業での有益性に密接に関係する植物の研究、そしてヒトの健康と環境に影響を及ぼす微生物に関する発見にまでわたった。今後数年間、細胞内および細胞外シグナル伝達機構の研究の前進は続くことが予測され、調節過程の知識を、生物生理学のレベルで調節生物学の文脈に置いた投稿が期待される。

本年の選定の協力者は以下のとおりである:
Henrik Dohlman(ノースカロライナ大学チャペルヒル校、米国)、George Dubyak(ケース・ウェスタン・リザーブ大学、米国)、Kevin Janes(バージニア大学、米国)、Li Ma(テキサス大学MDアンダーソンがんセンター、米国)、Katsuhiko Mikoshiba(理研脳科学総合研究センター、日本)、Klaus Okkenhaug(ベイブラム研究所、英国)、Norbert Perrimon(ハーバード大学医学大学院、米国)、Ute Römling(カロリンスカ研究所、スウェーデン)、Reuben Shaw(ソーク生物学研究所、米国)、Jen Sheen(ハーバード大学医学大学院、米国)、John Silke(ウォルター・アンド・エリザ・ホール医学研究所、オーストラリア)、Cyril Zipfe(1セインズベリー研究所、英国)。

Related Resources

Editorial Guide

- J. D. Berndt, W. Wong, 2014: Signaling breakthroughs of the year. *Sci. Signal.* **8**, eg1 (2015).

Editors' Choice

- L. K. Ferrarelli, Astrocytes promote brain metastasis. *Sci. Signal.* **8**, ec332 (2015).
- John F. Foley, Preparing for metastasis. *Sci. Signal.* **8**, ec347 (2015).
- N. R. Gough, Rice that tolerates a chill. *Sci. Signal.* **8**, ec76 (2015).
- N. R. Gough, Pyroptosis mediator identified. *Sci. Signal.* **8**, ec319 (2015).
- N. R. Gough, Microbes message gut secretory cells. *Sci. Signal.* **8**, ec101 (2015).
- P. J. Hines, Germination signals illuminated. *Sci. Signal.* **8**, ec244 (2015).
- P. J. Hines, *Striga* uses a hypersensitive receptor. *Sci. Signal.* **8**, ec293 (2015).
- P. A. Kiberstis, Cancer as a case of uncontrolled traffic. *Sci. Signal.* **8**, ec291 (2015).
- A. M. VanHook, Antimalarial drugs inhibit PI3P production. *Sci. Signal.* **8**, ec118 (2015).
- V. Vinson, Evolution of dynamics affects function. *Sci. Signal.* **8**, ec47 (2015).
- W. Wong, Keeping cells from getting Hippo-sized under energy stress. *Sci. Signal.* **8**, ec108 (2015).
- L. M. Zahn, How plant parasites evolved to find hosts. *Sci. Signal.* **8**, ec221 (2015).

Research Articles

- W. Zhang, N. Nandakumar, Y. Shi, M. Manzano, A. Smith, G. Graham, S. Gupta, E. E. Vietsch, S. Z. Laughlin, M. Wadhwa, M. Chetram, M. Joshi, F. Wang, B. Kallakury, J. Toretzky, A. Wellstein, C. Yi, Downstream of mutant KRAS, the transcription regulator YAP is essential for neoplastic progression to pancreatic ductal adenocarcinoma. *Sci. Signal.* **7**, ra42 (2014).
- M. Ono, N. Kosaka, N. Tominaga, Y. Yoshioka, F. Takeshita, R.-U. Takahashi, M. Yoshida, H. Tsuda, K. Tamura, T. Ochiya, Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells contain a microRNA that promotes dormancy in metastatic breast cancer cells. *Sci. Signal.* **7**, ra63 (2014).
- V. Gama, V. Swahari, J. Schafer, A. J. Kole, A. Evans, Y. Huang, A. Cliffe, B. Golitz, N. Sciaky, X.-H. Pei, Y. Xiong, M. Deshmukh, The E3 ligase PARC mediates the degradation of cytosolic cytochrome c to promote survival in neurons and cancer cells. *Sci. Signal.* **7**, ra67 (2014).
- A. M. Mackey, D. A. Sarkes, I. Bettencourt, J. M. Asara, L. E. Rameh, PIP4ky is a substrate for mTORC1 that maintains basal mTORC1 signaling during starvation. *Sci. Signal.* **7**, ra104 (2014).
- J. W. Haskins, D. X. Nguyen, D. F. Stern, Neuregulin 1-activated ERBB4 interacts with YAP to induce Hippo pathway target genes and promote cell migration. *Sci. Signal.* **7**, ra116 (2014).
- M. P. Walker, C. M. Stopford, M. Cederlund, F. Fang, C. Jahn, A. D. Rabinowitz, D. Goldfarb, D. M. Graham, F. Yan, A. M. Deal, Y. Fedoriw, K. L. Richards, I. J. Davis, G. Weidinger, B. Damania, M. B. Major, FOXPI potentiates Wnt/ β -catenin signaling in diffuse

large B cell lymphoma. *Sci. Signal.* **8**, ra12 (2015).

- J. Rashidian, E. Le Scolan, X. Ji, Q. Zhu, M. M. Mulvihill, D. Nomura, K. Luo, Ski regulates Hippo and TAZ signaling to suppress breast cancer progression. *Sci. Signal.* **8**, ra14 (2015).
- A. Blanka, J. Düvel, A. Dötsch, B. Klinkert, W.-R. Abraham, V. Kaever, C. Ritter, F. Narberhaus, S. Häussler, Constitutive production of c-di-GMP is associated with mutations in a variant of *Pseudomonas aeruginosa* with altered membrane composition. *Sci. Signal.* **8**, ra36 (2015).
- Y. Morikawa, M. Zhang, T. Heallen, J. Leach, G. Tao, Y. Xiao, Y. Bai, W. Li, J. T. Willerson, J. F. Martin, Actin cytoskeletal remodeling with protrusion formation is essential for heart regeneration in Hippo-deficient mice. *Sci. Signal.* **8**, ra41 (2015).
- S. G. Daniele, D. Béraud, C. Davenport, K. Cheng, H. Yin, K. A. Maguire-Zeiss, Activation of MyD88-dependent TLR1/2 signaling by misfolded α -synuclein, a protein linked to neurodegenerative disorders. *Sci. Signal.* **8**, ra45 (2015).
- E. Mills, E. Petersen, B. R. Kulasekara, S. I. Miller, A direct screen for c-di-GMP modulators reveals a *Salmonella Typhimurium* periplasmic L-arginine-sensing pathway. *Sci. Signal.* **8**, ra57 (2015).
- J. Ryu, S.-H. Park, Simple synthetic protein scaffolds can create adjustable artificial MAPK circuits in yeast and mammalian cells. *Sci. Signal.* **8**, ra66 (2015).
- H. Zhang, S. K. Ramakrishnan, D. Triner, B. Centofanti, D. Maitra, B. Györfy, J. S. Sebolt-Leopold, M. K. Dame, J. Varani, D. E. Brenner, E. R. Fearon, M. B. Omary, Y. M. Shah, Tumor-selective proteotoxicity of verteporfin inhibits colon cancer progression independently of YAP1. *Sci. Signal.* **8**, ra98 (2015).
- I. M. A. Wolf, B.-P. Diercks, E. Gattkowsky, F. Czarniak, J. Kempski, R. Werner, D. Schetelig, H.-W. Mittrücker, V. Schumacher, M. Von Osten, D. Lodygin, A. Flügel, R. Fliegert, A. H. Guse, Frontrunners of T cell activation: Initial, localized Ca^{2+} signals mediated by NAADP and the type 1 ryanodine receptor. *Sci. Signal.* **8**, ra102 (2015).

REFERENCES AND NOTES

Referenceについては、以下をご参照ください。
<http://stke.sciencemag.org/content/9/409/eg1.full>

Citation: E. M. Adler, 2015: Signaling breakthroughs of the year. *Sci. Signal.* **9**, eg1 (2016).

がんにおけるマイクロRNA 生合成と 遺伝子発現抑制の調節不全

Dysregulation of microRNA biogenesis and gene silencing in cancer

Akiko Hata^{1*} and Judy Lieberman^{2*}

¹ Cardiovascular Research Institute, University of California, San Francisco, MC:3118, 555 Mission Bay Boulevard South, Smith Cardiovascular Research Building, Room 252T, San Francisco, CA 94143, USA.

² Cellular and Molecular Medicine Program, Boston Children's Hospital and Department of Pediatrics, Harvard Medical School, Warren Alpert Building 255, 200 Longwood Avenue, Boston, MA 02115, USA.

* Corresponding author. E-mail: akiko.hata@ucsf.edu (A.H.); judy.lieberman@childrens.harvard.edu (J.L.)



左から羽田 明子、Judy Lieberman

羽田 明子 Akiko Hata

Professor, Cardiovascular Research Institute, University of California, San Francisco

Judy Lieberman

Professor, Boston Children's Hospital and Department of Pediatrics, Harvard Medical School

Contact

羽田 明子 E-mail : akiko.hata@ucsf.edu

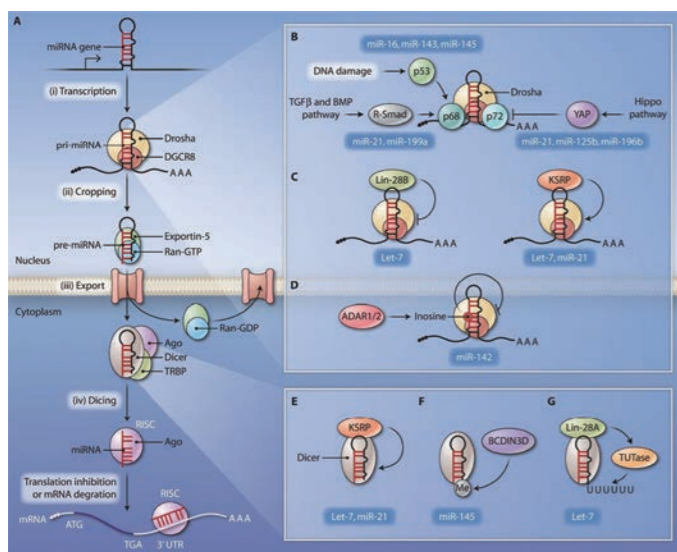
所在地 : MC:3118, 555 Mission Bay Blvd. South, SCVRB, Rm. 252T, San Francisco, CA 94143, USA

URL : https://bms.ucsf.edu/directory/faculty/akiko-hata-phd

Abstract

マイクロRNA (microRNA または miRNA) は部分相補的な mRNA の存在量を抑制し、また、その mRNA の翻訳を阻害する低分子非コード RNA である。miRNA ごとに数百の mRNA を制御可能で、強く制御される mRNA もあるが多くの弱く制御されている。増殖、細胞シグナル伝達、分化、ストレス応答と DNA 修復、細胞の接着と運動性、炎症、細胞の生存、老化、アポトーシスなど、多種多様な生物学的機能を調節できるが、これらの機能はすべて、がんの発生、治療反応、転移に密接に関連する。miRNA の発現と活性は空間的にも時間的にも調節されている。多くのがんで、miRNA 全体の発現量が減少している。また、がんでは、がん遺伝子として働くがん関連 miRNA (oncomiR) やがん抑制遺伝子として働くがん関連 miRNA が、調節不全に陥っていることも多い。このレビューでは、がんの促進に関わる miRNA 生合成と遺伝子発現抑制の異常について、新たに明らかになった知見の概要をまとめた。

Figure and Note



図：マイクロRNAの生合成とRISC(RNA-induced silencing complex)複合体への取り込み機構及びその調節機構

(A) マイクロRNAの生合成は(i)マイクロRNAをコードする遺伝子からプライマリーマイクロRNAへの転写、(ii) Drosha/DGCR8マイクロプロセッサー複合体による切断(cropping)によるプリカーサーマイクロRNAの生成、(iii) Xpo5とグアニジン5'-三リン酸(GTP)結合タンパク質Ranによる核から細胞質への移行、(iv) Dicer、Argonaute(Ago)、TRBP複合体による切断(dicing)、二本鎖の成熟マイクロRNAの生成、といういくつかの過程を経る。その後、二本鎖成熟マイクロRNAは一本鎖成熟マイクロRNAになり、「RISC」と呼ばれる複合体の一部として標的mRNAに結合し、mRNAの分解や翻訳抑制を引き起こす。(B-D) 翻訳後修飾またはタンパク質相互作用が、DroshaやDicer、他のマイクロRNA生成に関与するタンパク質の活性を調節したり、マイクロRNA自体の安定性を変えたりすることにより、マイクロRNA生合成及びRISC複合体形成の一連の過程は制御される。例えば、Drosha/DGCR8複合体によるプライマリーマイクロRNAの代謝は(B)複合体に含まれるp68やp72などのRNAヘリカーゼ・サブユニットを制御するような転写因子または、(C)特異的なプライマリーマイクロRNAのループ構造に結合するようなRNA結合タンパク質、(D)プライマリーマイクロRNAの切断を阻害する塩基置換に関与するRNA編集酵素などにより制御されている。(E) KSRPはDicerのプリカーサーマイクロRNA切断機能を促進する。(FおよびG) プリカーサーマイクロRNAの生合成や安定性は、それぞれ(F)メチル化や(G)ユビキチン化のようなRNA修飾により減弱することも知られている。

Citation: A. Hata, J. Lieberman, Dysregulation of microRNA biogenesis and gene silencing in cancer. *Sci. Signal.* 8, re3 (2015).

マイクロRNA研究の最前線 — がん発症の仕組みからがん治療への応用

マイクロRNA(miRNA)は、約22塩基からなる小さなノンコーディング(タンパク質をコードしていない)RNAで、部分的に相補的な配列を持つメッセンジャーRNA(mRNA)の3'非翻訳領域(3'-UTR)を標的とし、その量を抑制したり、翻訳を阻害したりして、遺伝子発現制御の抑制に関わっています。一つのマイクロRNAが約数百のmRNAを制御しているとされ、それにより様々な一連の生物学的機能を発揮します。例えば、細胞増殖、細胞シグナル、分化、ストレス応答、DNA修復、細胞接着や運動、炎症、細胞の生存、老化、アポトーシスなどがマイクロRNAにより制御されていることが知られています。

最近10年で、発がんや治療応答性、転移などの過程に、マイクロRNAが密接に関わっていることが明らかになってきました。一般に、多くのがんで、マイクロRNAの発現は全体的に減少していることが知られています。また、一方で、がん関連マイクロRNAと呼ばれるマイクロRNAは、がん遺伝子的マイクロRNA(oncomiR)やがん抑制的マイクロRNA(tumor suppressor miR)として働き、生合成の制御異常、安定性の異常、そして塩基配列の変異などが多くのがんで報告されています。Let-7、miR-17-92、miR-200、miR-195などが、がん関連マイクロRNAとして同定されています。マイクロRNAの発現や活性は、特異的かつ一過的に制御されています。マイクロRNAは、mRNAと同様にRNAポリメラーゼII(RNA Pol II)により転写された後、DroshaそしてDicerと呼ばれるRNA分解酵素による2段階の成熟過程を経て、最終的に機能を発揮する成熟マイクロRNAとなります。近年、マイクロRNAの生合成に関わる因子の翻訳後修飾や補因子が次々に同定されており、マイクロRNAの生合成機構や遺伝子発現抑制機構の詳細が解明されてきました。これまでに、DroshaおよびDGCR8(Droshaの補因子)、Argonaute(Ago; マイクロRNAによる遺伝子発現抑制に関わる分子)、TRBP(Dicerの補因子)がリン酸化や、アセチル化、ユビキチン化などの翻訳後修飾を受け、活性が制御されていることが報告されています。これらマイクロRNAの制御機構の異常がどのようにがんの促進につながるのかという研究が、現在加速的に進んでいます。実際に、DroshaおよびDicer、Exportin5(Xpo5; マイクロRNA前駆体の核外排出に関与する分子)、*TARBP2*(TRBPタンパク質をコードする)遺伝子に、がんにおいて変異が見つかっています。

今後は、細胞種や環境特異的なマイクロRNA生合成の制御機構の詳細、特にマイクロRNAの活性の制御に関わる分子やその翻訳後修飾などが同定されることにより、それを標的とした新たながんの治療薬や予防薬の開発につながることを期待されています。

カリフォルニア大学サンフランシスコ校 心臓血管研究所 羽田 明子 研究室

私たちの研究室ではtransforming growth factor β(TGFβ)のシグナル伝達系による細胞、発生段階特異的なシグナルの伝達のロジックを解明すべく、TGFβによるmiRNAの生合成の制御、miRNAやRNA結合タンパク質によるTGFβシグナル伝達系の制御、そしてそれらの異常と様々な疾患(肺高血圧症、遺伝性出血性毛細血管拡張症、脆弱X症候群、自閉症、知的障害など)との関連を明らかにする研究を行っています。臨床サンプルや遺伝子組換えにより作られたマウス、ラット、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエなどの疾患モデルを用いて、疾病の発症に関わる生理的な分子機構を解明し、新たな創薬標的分子の発見や標的的特異的な創薬を目指して、日々研究に取り組んでいます。私たちの研究に興味や質問のある方は是非ご一報ください。



突起形成を伴うアクチン細胞骨格リモデリングは Hippo 欠損マウスの心臓の再生に不可欠である

Actin cytoskeletal remodeling with protrusion formation is essential for heart regeneration in Hippo-deficient mice

Yuka Morikawa^{1,*} Min Zhang^{2,3,*} Todd Heallen¹ John Leach² Ge Tao² Yang Xiao^{1,3}
Yan Bai^{2,3} Wei Li⁴ James T. Willerson¹ and James F. Martin^{1,2,5,6,†}

¹ Texas Heart Institute, Houston, TX 77030, USA.

² Department of Molecular Physiology and Biophysics, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA.

³ Institute of Biosciences and Technology, Texas A&M Health Science Center, Houston, TX 77030, USA.

⁴ Division of Biostatistics, Dan L. Duncan Cancer Center, Department of Molecular and Cellular Biology, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA.

⁵ Program in Developmental Biology, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA.

⁶ Cardiovascular Research Institute, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA.

[†] Corresponding author. E-mail: jfmartin@bcm.edu.

* These authors contributed equally to this work.



森川 雪香 Yuka Morikawa

Cardiomyocyte Renewal Lab, Texas Heart Institute
Department of Molecular Physiology and Biophysics, Baylor College of Medicine

Contact

E-mail: ymorikawa@texasheart.org
所在地: 6770 Bertner Ave, Houston, TX 77030, USA

Abstract

哺乳類の心臓はほとんど再生せず、心筋梗塞などの傷害は通常、心不全を引き起こす。Hippoシグナル伝達系は進化的に保存されたキナーゼ伝達系であり、発生中においては臓器の大きさを調整し、成体では心筋細胞の再生を抑制することが知られている。我々は、心筋細胞の代謝回転と再生時に活性化される Yap の標的遺伝子を同定するため、Hippo 経路欠損マウス心臓を用いて、Yap のクロマチン免疫沈降シーケンシング (ChIP-seq) と、mRNA 発現プロファイリングを行った。Yap は、細胞周期の進行を制御する遺伝子群、アクチン重合を促進する遺伝子群、及びアクチン細胞骨格と細胞外マトリクスの連結に関与する遺伝子群を、直接調節することが明らかとなった。3 番目の遺伝子群には、ジストロフィン-糖タンパク複合体の構成成分が含まれていることが明らかとなった。ジストロフィンの欠損は、ヒトの筋ジストロフィーの原因として知られている。Hippo 経路欠損マウス心臓では、傷害を受けると瘢痕組織近傍の心筋細胞から突起が生じることが観察され、細胞骨格の再構築 (リモデリング) が示唆された。筋ジストロフィーのモデル動物である、ジストロフィン欠損 *mdx* マウスの心臓では、野生型マウスでは心臓の再生が認められる新生仔期において心臓の再生と細胞骨格リモデリングの障害が認められたが、心筋細胞の増殖は正常であった。われわれのデータから、Yap は、細胞周期進行タンパク質をコードする遺伝子に加えて、細胞骨格のリモデリングを促進する遺伝子を調節することが示された。したがって、Hippo 経路による Yap の阻害を遮断すると、Yap が心臓傷害による組織の機械的変化を知覚し、標的遺伝子を活性化することによって心臓の修復を促進する可能性がある。

Figure and Note

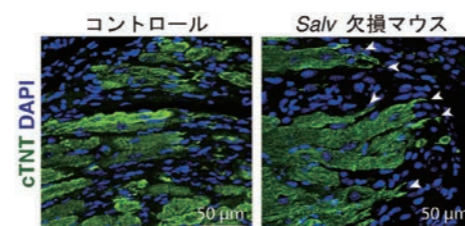


図: 心筋梗塞 10 日後の心筋細胞の細胞骨格リモデリング
コントロールと Hippo 経路のアダプター分子 *Salv* 欠損マウスの心臓切片。緑: 心筋トロポニン T (cTNT)、青: DAPI 染色。Salv 欠損心筋細胞で、瘢痕組織 (DAPI 染色のみの領域) の方向に突起が観察された。

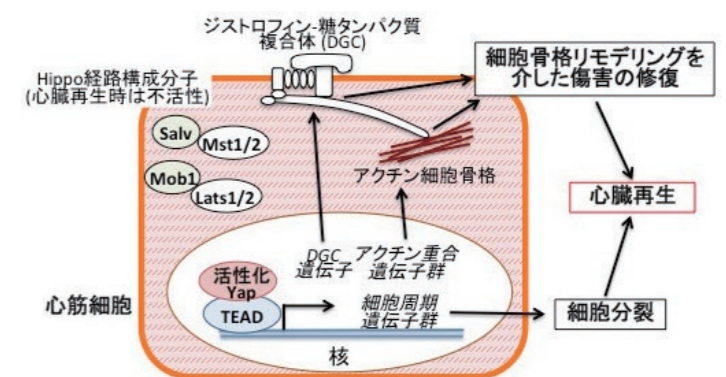
Citation: Y. Morikawa, M. Zhang, T. Heallen, J. Leach, G. Tao, Y. Xiao, Y. Bai, W. Li, J. T. Willerson, and J. F. Martin, Actin cytoskeletal remodeling with protrusion formation is essential for heart regeneration in Hippo-deficient mice. *Sci. Signal.* 8, ra41 (2015).

Hippo 経路による心臓再生の抑制メカニズムの解明

哺乳類の心臓は、胎児および新生児期には再生しますが、成体になるとほとんど再生しません。近年、私たちのグループを含む複数グループの研究により、成体マウスの心臓再生の抑制に Hippo シグナル経路が関与していることがわかってきました。以前の私たちの研究¹では、成体マウスの心筋細胞で組織特異的に Hippo 経路を欠損させると、心筋梗塞の後に心臓の再生が促進されることを示しました。本研究は、更にそのメカニズムの解明を目的としました。

Hippo 経路はキナーゼ伝達系であり、転写共役因子 Yap の核移行を抑制します。一方、Hippo 経路が不活性化されると Yap は核に移行し、TEAD 等の転写因子と共に、標的遺伝子の発現を活性化させます。一方、恒常的活性化 Yap の強制発現によっても、Hippo 経路の不活性化と同様の効果が認められています。本研究では、心筋における Yap の標的遺伝子群を明らかにすることによって、心臓再生の分子機構を解明しました。また、心臓に傷害を起こさせた Hippo 経路欠損マウスや筋ジストロフィーモデルマウスなどを用い、主に免疫組織染色法によって、心臓再生のメカニズムを組織レベルで明らかにしました。

本研究では、Yap によって促進される心臓の再生には少なくとも、1) 既存の心筋細胞の分裂、及び、2) 瘢痕組織近傍の心筋細胞の細胞骨格リモデリング、の 2 つのステップがあることを明らかにしました。このうち、細胞骨格リモデリングにはジストロフィン-糖タンパク複合体が必須であり、リモデリングによって心筋細胞が移動し瘢痕を減少させることが示唆されました。



私たちの研究グループは、成体マウスで心臓の再生メカニズムを解明し、最終的に、再生医療へ応用することを目指しています。心臓の再生を促進する方法としては、Hippo 経路の不活性化もしくは Yap の活性化がまず思い浮かびます。しかし、これらは他の臓器でがんを引き起こす可能性が高いため、医療への応用のためには、心筋細胞特異的な経路の発見が望まれていました。今回、筋細胞に特異的に発現するジストロフィン-糖タンパク複合体が心臓再生に必須であることが明らかとなり、がん化リスクの低い標的分子としての利用が期待されます。

¹ Heallen T *et al.*, Hippo signaling impedes adult heart regeneration. *Development* 140, 4683-4690 (2013).

心臓の再生医療へのアプローチ

心筋細胞は入れ替えが非常に少なく、50 歳のヒトでは、およそ半分のみが出生時のものと試算されています。一般に哺乳類の心筋細胞は自己複製能が非常に低く、また幹細胞の存在については未だ意見が分かれるのですが、上記のとおり新生児期の心臓では、哺乳類でも代謝回転および再生能が認められています。このとき新たな心筋細胞は、既に分化した心筋細胞が分裂することによって生じることがわかっています。また、成人においても、ごくわずかながら既存の心筋細胞から新たな心筋細胞が派生します。よって、心筋細胞の代謝回転を高め、高頻度で新たな心筋細胞を生じさせることによって、心臓の再生プロセスを促進できるのではないかと期待されています。

心筋梗塞などで壊れた心筋の再生医療といえども、幹細胞や多能性幹細胞由来の心筋を移植する細胞治療が思い浮かぶと思います。しかし、私たちは外来の細胞による治療ではなく、既存の細胞の持つ自己複製能や再生能を刺激することによって、再生医療につなげようとしています。

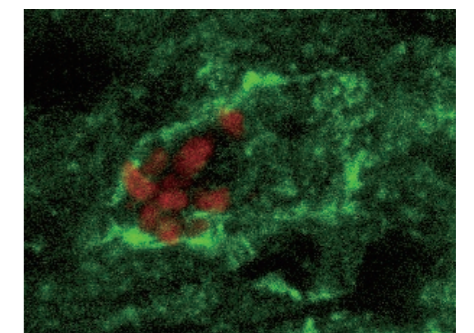


図: マウス新生仔での心筋細胞の分裂の様子。赤: リン酸化ヒストン H3 (細胞分裂マーカー)、緑: 心筋トロポニン T。

IRE1は病的状態下での小胞体膜透過と細胞死を阻止する

IRE1 prevents endoplasmic reticulum membrane permeabilization and cell death under pathological conditions

Kohsuke Kanekura^{1,2} Xiucui Ma³ John T. Murphy³ Lihua J. Zhu⁴ Abhinav Diwan^{3,5} and Fumihiko Urano^{1,6,*}

¹ Division of Endocrinology, Metabolism, and Lipid Research, Department of Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110, USA.

² Department of Molecular Pathology, Tokyo Medical University, Tokyo 160-8402, Japan.

³ Division of Cardiology, Department of Medicine, Center for Cardiovascular Research, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110, USA.

⁴ Programs in Molecular, Cell and Cancer Biology, Molecular Medicine, and Bioinformatics and Integrative Biology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA 01655, USA.

⁵ John Cochran VA Medical Center, St. Louis, MO 63106, USA.

⁶ Department of Pathology and Immunology, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110, USA.

* Corresponding author. E-mail: urano@dom.wustl.edu



浦野 文彦 *Fumihiko Urano*

Samuel E. Schechter Professor of Medicine, Departments of Internal Medicine and Pathology, Washington University School of Medicine

金蔵 孝介 *Kohsuke Kanekura*

東京医科大学 基礎医学系 分子病理学分野 講師

Contact

浦野 文彦 E-mail: urano@dom.wustl.edu

所在地: 660 South Euclid Ave, Campub Box 8127, St. Louis, MO 63110, USA

URL: http://wolframsyndrome.dom.wustl.edu/

左から浦野 文彦、金蔵 孝介

Abstract

小胞体(ER)は、細胞生存のきわめて重要な調節因子であることが明らかになっている。IRE1は、キナーゼ活性とRNase活性をもつ膜貫通タンパク質で、ERに局在し、ERストレスに対する抵抗性を増進する。われわれは、IRE1がERストレス介在性細胞死を防ぐ機構を示した。ERストレスを受けている細胞において、IRE1シグナル伝達は、BaxおよびBakを介するER膜透過と細胞死を阻止した。キナーゼ活性によって起こるIRE1シグナル伝達が抑制されると、BH3ドメイン含有タンパク質Bnip3が蓄積し、このタンパク質が続いて、ER膜内のBaxとBakをオリゴマー化させ、ER膜透過を引き起こした。その結果、ERストレスへの応答において、IRE1を欠損した細胞はER内容物の漏出を起こしやすく、これが、ミトコンドリア内のカルシウムの蓄積、細胞質内の酸化ストレス、そして最終的に細胞死を伴った。われわれの結果は、ERから発生する細胞死初期化段階の阻止にIRE1が果たす役割を明らかにするとともに、糖尿病や Wolfram 症候群などの、ERストレスを特徴とする疾患の治療の標的候補を示している。

Figure and Note

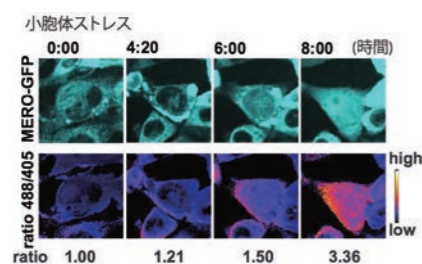


図1: redox-sensitive GFPによる小胞体膜透過の検出

小胞体ストレス下における小胞体膜の透過性亢進は小胞体に局在させた redox-sensitive GFPが小胞体内腔の酸化型から細胞質の還元型へ変化することにより容易に検出することが出来る。

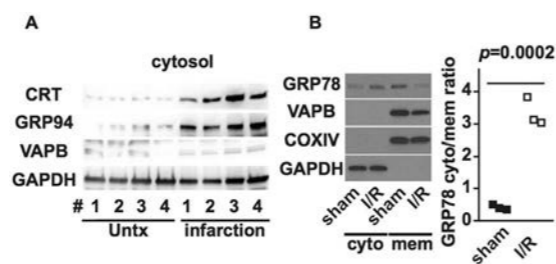


図2: 動物疾患モデルにおける小胞体膜透過性の亢進

強い小胞体ストレスを誘導する脳梗塞モデルマウス(A)および心筋虚血再還流モデルマウス(B)においても小胞体内腔タンパクの細胞質への漏出が観察された(I/R: 虚血再還流)。

Citation: K. Kanekura, X. Ma, J. T. Murphy, L. J. Zhu, A. Diwan, F. Urano, IRE1 prevents endoplasmic reticulum membrane permeabilization and cell death under pathological conditions. *Sci. Signal.* 8, ra62 (2015).

小胞体ストレスで小胞体に穴が開く!?

我々は、哺乳類細胞における小胞体内レドックスの可視化のために redox-sensitive GFPに小胞体移行シグナルを付加した Mammalian-ER redox sensitive GFP(MERO-GFP)を開発しました¹。この蛍光タンパク質を用いて小胞体ストレスが小胞体内レドックスに与える影響について検討を行ったのですが、急速に全体的に小胞体内レドックスが乱れるという酵母での報告と異なり、小胞体ストレスを与えても哺乳類細胞の小胞体内のレドックスに大きな変化は見られませんでした。しかしフローサイトメトリーで検討を行う過程で、明らかに小胞体ストレス依存性に小胞体内レドックスが狂う heterogeneous な一群が存在し、しかも経時的にその割合が増大することを見つけたことがこの研究のきっかけとなりました。

培養細胞に小胞体ストレスを負荷すると、全ての細胞が一様に死ぬ訳ではなく、早期に死ぬ細胞もあれば後期まで生存する細胞も存在します。この heterogeneity を説明するのはこれまで困難でしたが、我々の研究により、BaxとBakにより小胞体膜透過性が亢進した細胞では、カルシウム貯蔵庫である小胞体の破綻によりミトコンドリアへのカルシウムの凝集亢進、過酸化水素の漏出による細胞内酸化ストレスの亢進、小胞体内環境の破綻による強い小胞体ストレスの誘導の結果細胞死を来すことがライブイメージングを通して明らかになりました。特に小胞体ストレスセンサーであるIRE1は小胞体ストレス下においてオートファジーを誘導することによりBH3タンパクBnip3の分解を司っており、IRE1を欠損するとBnip3が細胞内に蓄積することにより小胞体膜上のBax/Bakの活性化が起こり、小胞体膜の透過性が亢進したことから、IRE1が小胞体ストレスから細胞を保護する新規の機構を明らかにしました。

本研究はMERO-GFPの開発から始まり、小胞体内(酸化的)と細胞質(還元的)の環境の違いからMERO-GFPが本来の目的である小胞体内のレドックス検出だけでなく、小胞体膜の破綻を鋭敏に検出することが判明したことから一気に研究が進みました。小胞体膜が破綻するとミトコンドリアへのカルシウム蓄積が起こりますが、これはアポトーシス誘導シグナルですので、小胞体膜の破綻は細胞の生死を分ける point of no return (不帰帰点)になっているのではないかと考えています。MERO-GFP発現マウスを用いることにより、疾患下で救える細胞と救えない細胞とを見分けることが可能になると期待しています。

また我々は、飽和脂肪酸 palmitic acidが小胞体膜の破綻を誘導することをMERO-GFPを用いて検出しました²。今後脂肪酸が小胞体膜の強度に与える影響についても研究を進めていきたいと考えています。

¹ K. Kanekura *et al.*, Establishment of a system for monitoring endoplasmic reticulum redox state in mammalian cells. *Lab. Investigation* 93,1254-1258 (2013).

² K. Kanekura *et al.*, Monitoring Endoplasmic Reticulum Membrane Integrity in β -Cells at the Single-Cell Level *Mol. Endocrinology* 29, 473-480 (2015).

小胞体病、Wolfram 症候群の治療法開発に挑む

私達の研究室は、小胞体病という概念を確立し、それに相当する疾患の診断法、治療法を開発する事をミッションとしています。遺伝病の研究をし、患者さんの登録制度、クリニックを整備しており、多くの患者さん、患者さんの家族とお会いします。私達の現在の最大の課題は、小胞体疾患である Wolfram 症候群の治療法を開発することです。Wolfram 症候群の患者さんは、小児糖尿病に加えて、神経変性、視力低下に苦しんでいます。患者さん達の抱えている臨床的な問題、そして悲しみ、家族の悲しみを、機会をつかんで、ラボメンバーに話すようにしています。自分達の研究が、いかに多くの人々を救う事になるかをみんなが理解し、一致団結して研究を進める事は、何にも増して重要ではないでしょうか?



ASKファミリーキナーゼは抗ウイルス応答時のI型インターフェロン誘導とアポトーシスを使い分ける

The ASK family kinases differentially mediate induction of type I interferon and apoptosis during the antiviral response

Tomohiko Okazaki^{1,†} Maiko Higuchi¹ Kohsuke Takeda² Kiyoko Iwatsuki-Horimoto³ Maki Kiso³ Makoto Miyagishi⁴ Hideyuki Yanai^{5,6} Atsushi Kato⁷ Mitsutoshi Yoneyama⁸ Takashi Fujita⁹ Tadatsugu Taniguchi^{5,6} Yoshihiro Kawaoka^{3,10,11,12} Hidenori Ichijo¹³ Yukiko Gotoh¹

¹ Laboratory of Molecular Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan.
² Division of Cell Regulation, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, Nagasaki 852-8521, Japan.
³ Division of Virology, Department of Microbiology and Immunology, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan.
⁴ Molecular Composite Medicine Research Group, Biomedical Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba 305-8566, Japan.
⁵ Department of Molecular Immunology and Center for International Research on Integrative Biomedical Systems, Institute of Industrial Science, The University of Tokyo, Tokyo 153-8505, Japan.
⁶ Max Planck-The University of Tokyo Center for Integrative Inflammation, Tokyo 153-8505, Japan.
⁷ Department of Quality Assurance and Radiological Protection, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan.
⁸ Medical Mycology Research Center, Chiba University, Chiba 260-8673, Japan.
⁹ Laboratory of Molecular Genetics, Institute for Virus Research, Kyoto University, Kyoto 606-8507, Japan.
¹⁰ Department of Special Pathogens, International Research Center for Infectious Diseases, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan.
¹¹ ERATO Infection-Induced Host Responses Project, Japan Science and Technology Agency, Saitama 332-0012, Japan.
¹² Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin–Madison, Madison, WI 53711, USA.
¹³ Laboratory of Cell Signaling, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan.
[†] Corresponding author. E-mail: tokazaki@mol.f.u-tokyo.ac.jp



岡崎 朋彦 Tomohiko Okazaki
東京大学大学院 薬学系研究科 分子生物学教室 助教

Contact E-mail: tokazaki@mol.f.u-tokyo.ac.jp
所在地: 113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
URL: http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~molbio/japanese/index.html

Abstract

ウイルス感染は、I型インターフェロン(IFN)の産生や感染細胞のアポトーシスなどの宿主防御機構を活性化させる。われわれは、これら2種類の抗ウイルス応答が、感染細胞において使い分けられるかどうかを検討した。マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)キナーゼキナーゼ(MAPKKK)であるアポトーシスシグナル調節キナーゼ1(ASK1)が、合成二本鎖RNAアナログであるポリイノシン・ポリシチジン酸[ポリ(I:C)]とRNAウイルスによって、細胞内で活性化されること、また、ASK1が、IFN-β遺伝子(*IFNB*)とアポトーシス性細胞死の両方の誘導に重要な役割を果たすことが示された。その一方で、ASK1を介したシグナル伝達の調節因子であるMAPKKK ASK2は、ASK1依存性アポトーシスには必須であるが、*IFNB*発現の誘導には必須ではないことが見出された。さらに、マウスにおいてASK1またはASK2の遺伝子を欠失させると、肺でのインフルエンザAウイルスの複製が促進された。これらの結果から、ASK1とASK2が抗ウイルス防御機構の構成要素であることが示され、ASK2は、I型IFN応答よりもアポトーシスを促進する、主要な調節因子として作用することが示唆された。ASK2は、肺などの、上皮が多く含まれる組織に選択的に存在するため、ASK2依存性アポトーシスは、修復速度が速く細胞が置き換えられやすい組織において、抗ウイルス防御に寄与している可能性がある。

Figure and Note

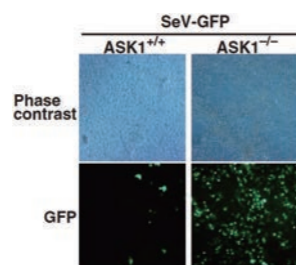


図1: ASK1は抗ウイルス防御に必須の役割を果たす
ASK1欠損(ASK1^{-/-})MEFにGFP発現センドライウイルス(SeV-GFP)を感染させたところ、ASK1^{+/+}MEFに比べウイルス増殖(GFP陽性細胞数)が顕著に亢進した。

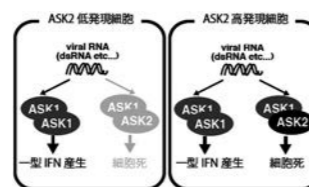


図2: ASKファミリーを介したI型IFN産生と細胞死の使い分け
シェイクスピア悲劇の主人公ハムレットは、旅役者の存在により死の危険を伴う叔父(父を殺し王位についた)への復讐を決意する。ウイルスに感染した細胞も、ASK2の存在量に応じて死ぬかどうかを決定する。

ウイルス感染細胞が「生きるべきか死ぬべきか」決める機構を発見

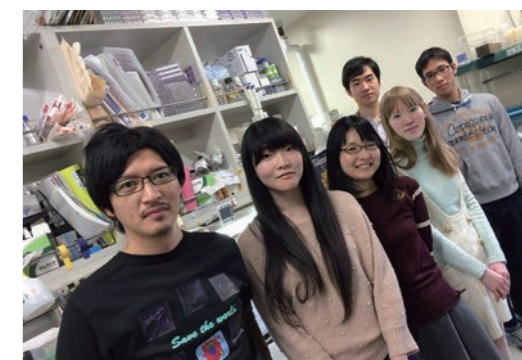
哺乳動物の細胞は、ウイルスに感染すると抗ウイルス作用を持つタンパク質I型インターフェロン(IFN)を産生したり、あるいは自殺したりすること(細胞死)でウイルスに対抗します。IFNによってウイルスに感染した細胞内でウイルス増殖が抑えられ、また感染細胞が自殺するという利他的な振る舞いによって、周囲の細胞へのウイルス感染を防止することが出来るからです。これら二つの抗ウイルス応答はウイルス排除に貢献するためウイルス感染個体にとって有益である一方、皮肉にも状況によっては感染した個体にダメージを与え有害となるという“矛盾”を抱えていることも分かっていました。ウイルス感染細胞が状況に応じて二つの応答を使い分けることで、こうむる利益と不利益のバランスが保たれれば、感染した個体が恒常性を維持しながら効率的にウイルスを排除できるようになります。しかしながら、ウイルス感染細胞がそもそも二つの応答を使い分けているのか、また使い分けているならどのような仕組みに基づいているのかはこれまで明らかにされていませんでした。

今回私達は、遺伝子改変マウスにウイルスを感染させる実験を行うことで、ASK1と呼ばれるタンパク質が、ウイルス感染細胞のI型IFN産生とアポトーシス性細胞死の両方の誘導を仲介することを発見しました。更に、ASK1の機能を調節するASKファミリータンパク質ASK2が、ASK1によるI型IFN産生には関与しない一方、細胞死の誘導にのみ貢献することも判明しました。このことから、I型IFN産生と、細胞死という二つの応答がASKファミリータンパク質群によって使い分けられていることが世界で初めて明らかになりました。

ASK1は様々な組織に一律に発現する一方で、ASK2は損傷時等に修復の早い肺や皮膚などの上皮組織で特に多く発現し、脳や心臓などの修復の遅い非上皮組織では逆に少ないことが知られています。従って、上皮組織ではASK2を介したアポトーシス性細胞死の誘導を優先することで効率よくウイルス排除を行い、一方の非上皮組織においては、アポトーシス性細胞死を用いず主にI型IFN産生を優先することで恒常性を維持している可能性が考えられます。即ち、あたかもハムレットに死を伴う復讐を覚悟させた旅役者のように、ASK2が修復の早い組織に発現し、遅い組織に発現しないことが、I型IFN産生と細胞死の使い分け、つまり「生きるべきか死ぬべきか」に貢献するという可能性です。以上の成果に基づき、「恒常性を維持しながら効率的にウイルスを排除する治療法」の開発が可能になると期待されます。

東京大学大学院 薬学系研究科 後藤由季子研究室 岡崎グループ

我々の身体を構成する細胞達は、外部からの様々なストレス刺激を受け取るとそれを細胞内で情報処理し、適切なアウトプットにつなげることで恒常性を維持しています。この「細胞レベル」の応答が適切に実行されることが、適切な「個体レベル」のストレス応答に貢献すると考えられます。私達のグループでは、ウイルス感染や細胞死誘導刺激に対する細胞の応答が、これまで全く知られていなかった新しい「細胞内小器官の働き」や「細胞同士のコミュニケーション」によって制御されている可能性を見出し、更なる検証を行っています。そして、それらの発見を生物学における新たな概念として確立すべく、またそれらの発見が(うっかり)世界を救う可能性を信じながら、日々サイエンスに没頭しています。



Citation: T. Okazaki, M. Higuchi, K. Takeda, K. Iwatsuki-Horimoto, M. Kiso, M. Miyagishi, H. Yanai, A. Kato, M. Yoneyama, T. Fujita, T. Taniguchi, Y. Kawaoka, H. Ichijo, Y. Gotoh, The ASK family kinases differentially mediate induction of type I interferon and apoptosis during the antiviral response. *Sci. Signal.* 8, ra78 (2015).

細菌のリン酸化プロテオームの系統的プロファイリングによって細菌特異的なリン酸化の特徴を明らかにする

Systematic profiling of the bacterial phosphoproteome reveals bacterium-specific features of phosphorylation

Miao-Hsia Lin Naoyuki Sugiyama Yasushi Ishihama*

Department of Molecular and Cellular Bioanalysis, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-8501, Japan.
* Corresponding author. E-mail: yishiham@pharm.kyoto-u.ac.jp



左から Miao-Hsia Lin、石濱 泰

林 妙霞 Miao-Hsia Lin
京都大学大学院 薬学研究科 製剤機能解析学分野 日本学術振興会外国人特別研究員

石濱 泰 Yasushi Ishihama
京都大学大学院 薬学研究科 製剤機能解析学分野 教授

Contact 石濱 泰 E-mail: yishiham@pharm.kyoto-u.ac.jp
所在地: 606-8501 京都市左京区吉田下阿達町 46-29
URL: http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/seizai/

Abstract

タンパク質リン酸化は、細菌において細胞過程を調節するためにきわめて重要な翻訳後修飾である。しかし、細菌試料からのリン酸化ペプチド濃縮は技術的に困難であるため、あまり広範には研究されていない。われわれは、細菌試料に適したリン酸化ペプチド濃縮法を開発し、単一の細菌試料から1,000を超えるリン酸化ペプチドを同定することに成功した。3種類の細菌のリン酸化プロテオームから、信頼性の高いセリン/スレオニンリン酸化モチーフ3個と、信頼性が中程度のモチーフ29個を発見した。真核生物において頻りにみられるプロリン指向性リン酸化モチーフや塩基性リン酸化モチーフが、細菌には認められないことがわかった。また細菌では、真核生物と異なるN末端リン酸化プロファイルが見られた。細菌性病原体による宿主細胞の感染には、キナーゼによるリン酸化を伴う場合が多いため、この研究で明らかになった細菌と真核生物のリン酸化選択性の違いは、今後の感染症治療のための細菌特異的な標的の同定につながることを期待される。

Figure and Note

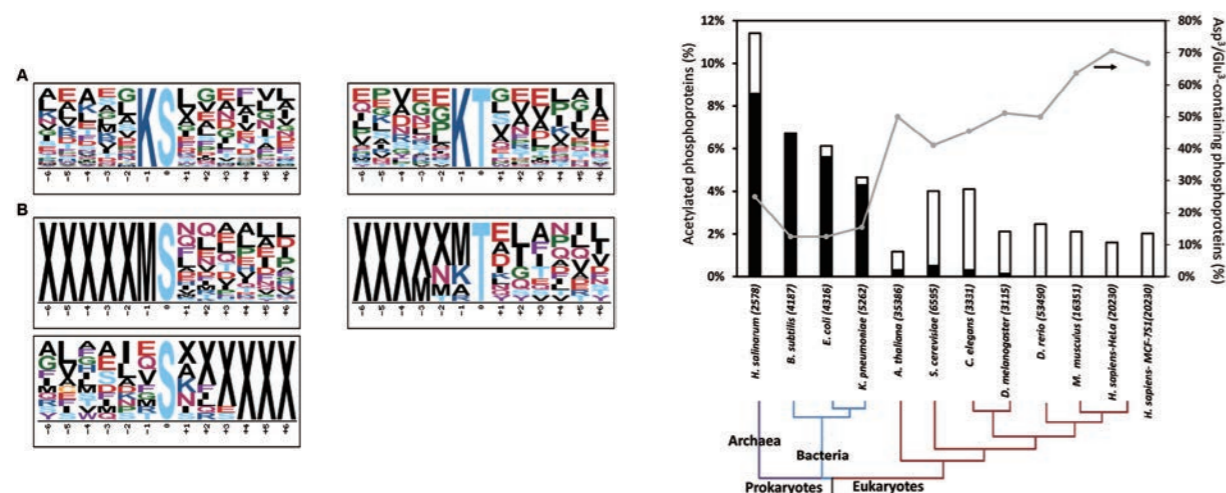


図1: 細菌リン酸化プロテオームのリン酸化モチーフ
Motif-Xを用いて抽出した統計的に有意な細菌特異的なリン酸化モチーフ。
(A)リン酸化セリン・スレオニン周辺の線形配列モチーフ、(B)N末端もしくはC末端におけるポジションモチーフ。

図2: N末端リン酸化パターンの進化解析
バーは全リン酸化タンパク中のN末端リン酸化タンパクの割合を示す。白部分はN末端アセチル化修飾を伴うもの。それぞれのバーは各生物プロテオームのN末端におけるSer2, Thr2含量で補正済み。折れ線は、Asp3, Glu3配列を含むN末端リン酸化タンパクの割合。

Citation: M.-H. Lin, N. Sugiyama, Y. Ishihama, Systematic profiling of the bacterial phosphoproteome reveals bacterium-specific features of phosphorylation. *Sci. Signal.* 8, rs10 (2015).

細菌リン酸化プロテオーム解析技術のブレイクスルーを発見

リン酸化ペプチド濃縮法と質量分析を組み合わせたリン酸化プロテオーム解析技術は近年急速に発展し、真核生物では数万種のリン酸化部位を同定することも可能となっていますが、細菌についてはほとんど報告がありませんでした。これは、真核生物に比べてリン酸化修飾量が極端に少ないためと考えられてきました。一方で、真核生物と同様に細菌においてもリン酸化修飾は重要な細胞機能と密接に関わっていることが分かっており、特に病原性細菌の感染過程等では中心的な役割を果たしていることから、細菌特異的なリン酸化修飾の分子基盤を明らかにすることは、感染症における新たな治療法の開発にもつながると考えられます。

今までに報告されている細菌のリン酸化プロテオーム解析法では単一試料から同定できるリン酸化ペプチド数は100種程度でした。今回我々は、当研究室で以前に開発したリン酸化ペプチド濃縮法であるヒドロキシ酸修飾酸化金属クロマトグラフィー (HAMMOC) 法をさらに発展させ、濃縮スケールを大きくし、タンパク質抽出過程で夾雑物を除く工程を加えることで、単一試料から1,000種以上のリン酸化ペプチドを同定することに成功しました。グラム陰性菌のモデルとして大腸菌 BW25113 株、グラム陽性菌のモデルとして枯草菌 168 株および病原性細菌としてクレブシエラ・ニューモニエ NTUH-K2044 株を測定し、細菌に共通するリン酸化モチーフを世界で初めて同定しました。これらのモチーフが他の生物種でどのように保存されているかを調べたところ、N末端リン酸化モチーフには細菌特異的な配列依存性があることがわかりました。一方、今回見つかったセリン・スレオニン・チロシンリン酸化サイトがどのようなタンパク質に含まれているかをしらべたところ、ヒスチジン・アスパラギン酸へのリン酸化修飾がよく知られている phosphotransferase system や two-component system のタンパク質に多く認められていました。また解糖系タンパク質やリボソームタンパク質もリン酸化修飾を受けることがわかりました。

今後の展開としては、今回見つけたリン酸化サイトを細胞機能と結びつけていくことであり、そのためには、それぞれのサイトの責任キナーゼを同定していくことが重要です。特に病原性細菌の感染過程におけるリン酸化とその責任キナーゼを明らかにしていくことにより、感染症や薬剤耐性菌等に対する新しい治療法の開発へつながることが期待できます。

京都大学大学院 薬学研究科 製剤機能解析学分野のメンバー

製剤機能解析学分野では質量分析を駆使したプロテオミクス研究を行っています。ハードウェアも含めた技術開発から計算機を用いた情報解析や培養細胞を用いた細胞機能解析まで、プロテオミクスの最先端を走り続けられるよう、24/7の質量分析計に負けないよう、大学院生、留学生が中心となって日夜がんばっております。



メカノセンシング異常とコフィリンの活性化がマウス上行大動脈瘤の進行に關与する

Abnormal mechanosensing and cofilin activation promote the progression of ascending aortic aneurysms in mice

Yoshito Yamashiro^{1,†} Christina L. Papke^{1,†} Jungsil Kim^{2,†} Lea-Jeanne Ringuette^{3,†} Qing-Jun Zhang⁴ Zhi-Ping Liu⁴ Hamid Mirzaei⁵ Jessica E. Wagenseil² Elaine C. Davis³ and Hiromi Yanagisawa^{1,6,†}

¹ Department of Molecular Biology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX 75390, USA.
² Department of Mechanical Engineering and Materials Science, Washington University, St. Louis, MO 63130, USA.
³ Department of Anatomy and Cell Biology, McGill University, Montreal, Quebec H3A 0C7, Canada.
⁴ Department of Internal Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX 75390, USA.
⁵ Department of Biochemistry and Proteomics Core Unit, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX 75390, USA.
⁶ Life Science Center of Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8577, Japan.
[†] Corresponding author. E-mail: hkyanagisawa@tara.tsukuba.ac.jp
^{*} Present address: Life Science Center of Tsukuba Advanced Research Alliance, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8577, Japan.
[†] These authors contributed equally to this work.



山城 義人 Yoshito Yamashiro
筑波大学 生命領域学際研究センター 助教
柳沢 裕美 Hiromi Yanagisawa
筑波大学 生命領域学際研究センター 教授

Contact 柳沢 裕美 E-mail: hkyanagisawa@tara.tsukuba.ac.jp
所在地: 305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1
URL: http://saggyhouse.tara.tsukuba.ac.jp

左から山城 義人、柳沢 裕美

Abstract

血管平滑筋細胞(SMC)と細胞外マトリックス(ECM)は、大動脈壁で互いに繋がっている。ECMの構成成分であるフィブリン4をコードする*Fbln4* 遺伝子をSMC特異的に欠失させたマウス(*Fbln4^{SMKO}*; *SMKO*)は、アンジオテンシン変換酵素(ACE)の増加を伴った上行大動脈瘤を発症し、生後1ヵ月以内のアンジオテンシンIIシグナル伝達の阻害によって、その発生は抑制される。我々は、大動脈瘤の発生と拡大に關与する分子を同定する目的で、生後1日目(P1)から30日目(P30)までの野生型とSMKOマウスから得た上行大動脈のタンパク質発現比較解析を行った。P14のSMKO上行大動脈において、アクチン脱重合因子であるコフィリンが脱リン酸化、すなわち活性化され、アクチン細胞骨格のリモデリングを認めた。コフィリンの脱リン酸化に先立ってP7では、コフィリンの脱リン酸化酵素であるスリングショット-1(SSH1)の発現量が増加していた。また、病変部では弾性線維-SMCの結合が形成されず血管壁の力学的変化を生じ、ACE遺伝子の転写因子であり機械的刺激を感知するEarly growth response 1の発現量の増加を認めた。P7以降でSMCの*Fbln4*を欠失させた場合、SSH1-コフィリンの活性化と大動脈瘤形成が観察されなかったことから、大動脈瘤の発生には、弾性線維-SMC結合の破綻が必要であることが示唆された。ホスホイノシチド3-キナーゼ(PI3K)は、アンジオテンシンII依存性のSSH1活性化に關与しており、P7からP30までPI3K阻害剤を投与すると、SSH1発現量が低下し、上行大動脈瘤の拡大が予防された。これらの結果から、上行大動脈瘤形成は、弾性線維-SMC結合の破綻と、SSH1およびコフィリン活性の増加に起因する、SMCの異常なメカノセンシングによって生じることが示唆されており、これらの経路が、上行大動脈瘤の治療法開発のための標的分子となる可能性がある。

Citation: Y. Yamashiro, C. L. Papke, J. Kim, L.-J. Ringuette, Q.-J. Zhang, Z.-P. Liu, H. Mirzaei, J. E. Wagenseil, E. C. Davis, H. Yanagisawa, Abnormal mechanosensing and cofilin activation promote the progression of ascending aortic aneurysms in mice. *Sci. Signal.* 8, ra105 (2015).

Figure and Note

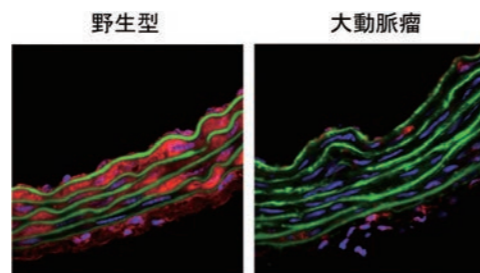


図1: 大動脈瘤病変部でのコフィリンの脱リン酸化(=活性化)を示す。(赤: リン酸化コフィリン、緑: 弾性線維、青: 核染色)

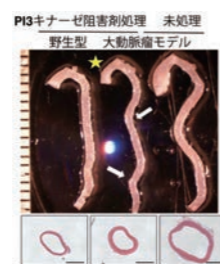


図2: コフィリンの活性化抑制と病態の改善
生後7日目の大動脈瘤モデルマウスに対してPI3キナーゼ阻害剤を投与した。大動脈瘤の拡大が抑制され(左図☆印)、蛇行も軽減された(白矢印)。上行大動脈の横断面(内径)を比較すると、野生型と差がなかった。

大動脈瘤形成に關与するメカニカルストレス応答と細胞骨格のリモデリング

大動脈瘤は大動脈壁が拡張する疾患であり、瘤が破裂した際の死亡率は非常に高いことが知られています。瘤の発生・拡大、破裂を未然に防ぐ内科的治療法を確立するためには、その分子メカニズムを明らかにする事が急務であると考えられています。細胞外マトリックスタンパク質であるフィブリン4は、大動脈壁に高く発現しており、弾性線維形成に深く關与しています。本研究グループはこれまでに、マウスの血管平滑筋細胞におけるフィブリン4の欠損が、上行大動脈瘤を引き起こすことを報告しました¹。また、病変部では壁の肥厚、弾性線維の崩壊、血管平滑筋細胞の増殖、レニン-アンジオテンシン系シグナルが局所的に増加していることを明らかにしてきました²。さらに、大動脈瘤の発生はアンジオテンシンIII型受容体拮抗薬であるロスアルタンやアンジオテンシン変換酵素阻害剤カプトプリルの投与によって完全に抑止される事を見出しましたが、大動脈瘤初期病変を誘導する分子機構の詳細は未だ明らかにされていませんでした。

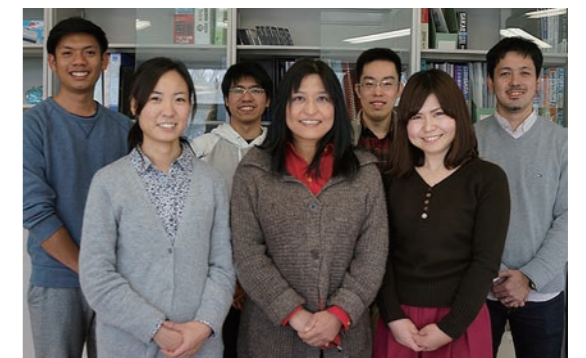
今回、大動脈瘤の形成・拡大に關与する分子を特定する目的で、上行大動脈の病変形成前(生後1日目)から完成期(生後30日目)までの上行大動脈サンプルを収集し、タンパク質の発現解析を行い野生型と比較しました。35種類のタンパク質の発現変化が病変部に特異的に認められ、時間軸と増減パターンから4グループに分けられました。その中でアクチン繊維の脱重合を促進するコフィリンとその脱リン酸化酵素スリングショット1(SSH1)が、大動脈瘤の発達に伴って顕著に活性化しており、病変部ではアクチン繊維の断裂が認められました。また、初期病変部では弾性線維と血管平滑筋細胞の結合が破綻し、血圧は正常であるにも関わらず、血管壁において機械刺激応答が亢進している事を見出しました。さらに、以前に報告したロスアルタン投与による大動脈瘤の抑制効果は、今回特定したシグナル伝達経路(SSH1-コフィリン)の活性化抑制に繋がっている事を見出しました。また、PI3キナーゼ阻害剤によりSSH1-コフィリン経路を抑制すると、大動脈瘤の発達が抑制されることも明らかにしました。

本研究により、大動脈瘤の形成・拡大に關与する新たなシグナル伝達経路が示唆されました。今後、臨床的応用にあたりこれらの分子の阻害剤の開発や、血管壁を維持するために重要な弾性線維形成との関わり、血管平滑筋細胞と内皮細胞の相互作用にどのようにこれらの分子が關与するのかを明らかにし、血管壁を維持する機構の理解を深めていくことが重要となります。

¹ J. Huang *et al.*, Fibulin-4 deficiency results in ascending aortic aneurysms: a potential link between abnormal smooth muscle cell phenotype and aneurysm progression. *Circ. Res.* 106 (3), 583-592 (2010).
² J. Huang *et al.*, Angiotensin-converting enzyme-induced activation of local angiotensin signaling is required for ascending aortic aneurysms in fibulin-4-deficient mice. *Sci. Transl. Med.* 5 (183), 183ra58 (2013).

細胞外環境から生命現象を見つめる

私たちの研究室は、2015年にテキサス大学サウスウエスタン医学センターから筑波大学に異動し再スタートしたばかりのラボです。アメリカ的な自由な環境で、個性とオリジナリティを大切にしています。血管生物学と細胞外基質を基軸とし、発生過程・疾患特異的な細胞外環境を同定し、応答する細胞との相互作用を研究しています。扱うシステムはマウスですが、心血管、腎臓、生殖器、皮膚など多様な組織の発生や病態を研究しています。今後は脳の構築に關わる細胞外マトリックスの探索、組織幹細胞を維持する細胞外環境因子の同定などを行っていきます。



ゲノムワイドRNAiスクリーニングによりショウジョウバエ成体においてE3ユビキチンリガーゼSherpaがTollによる自然免疫シグナル伝達の仲介に関与することが明らかに

Genome-wide RNAi screening implicates the E3 ubiquitin ligase Sherpa in mediating innate immune signaling by Toll in *Drosophila* adults

Hirota Kanoh^{1,†} Li-Li Tong^{1,†} Takayuki Kuraishi^{1,2,†,§} Yamato Suda¹ Yoshiki Momiuchi¹ Fumi Shishido¹ and Shoichiro Kurata^{1,§}

¹ Division of Molecular Genetics, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Sendai 980-8578, Japan.

² Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), Japan Science and Technology Agency, Tokyo 102-0076, Japan.

[§] Corresponding author. E-mail: takayuki.kuraishi@gmail.com (T.K.); kurata@mail.pharm.tohoku.ac.jp (S.K.)

[†] Present address: Division of Glycopathology, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Pharmaceutical University, Sendai 981-8558, Japan.

[‡] These authors contributed equally to this work.

[§] Present address: Department of Microbiology and Immunology, Keio University School of Medicine, Tokyo 160-8582, Japan.



左から狩野 裕考、倉石 貴透、倉田 祥一郎

狩野 裕考 *Hirota Kanoh*
東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野 博士課程
(現 東北医科薬科大学 機能病態分子学教室 博士研究員)

倉石 貴透 *Takayuki Kuraishi*
東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野 助教
(現 慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室 専任講師)

倉田 祥一郎 *Shoichiro Kurata*
東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野 教授

Contact

倉田 祥一郎
E-mail: kurata@m.tohoku.ac.jp
所在地: 980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉6-3
URL: http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~seimei/seimei_original.html

Abstract

ショウジョウバエ (*Drosophila*) Toll経路は、グラム陽性菌および真菌に対する自然免疫応答に重要な役割を果たす。この経路の未知なる構成因子を同定するために、私たちは、*ex vivo*での比較ゲノムワイドRNA干渉スクリーニングを行った。4種類のスクリーニングにおいて、Tollアダプタータンパク質dMyd88、下流キナーゼPelle、核内因子κB(NF-κB)ホモログDifのいずれかを過剰発現させるか、哺乳類NF-κB抑制因子のショウジョウバエホモログであるCactusをノックダウンした。これらのスクリーニングに基づき、Toll受容体のシグナル伝達の活性化に必要であるE3ユビキチンリガーゼSherpaを同定した。機能喪失型*sherpa*変異ショウジョウバエでは、抗菌ペプチドの産生低下と、グラム陽性菌による感染に対する感受性増大が認められた。培養細胞において、SherpaはdMyd88とSherpa自身のユビキチン化を仲介し、SherpaとショウジョウバエSUMO(低分子ユビキチン様修飾因子)は、dMyd88を含有するアダプター複合体の適切な膜局在化に必要であった。これらの結果から、ショウジョウバエの宿主防御におけるSherpaの役割が明らかにされており、Toll受容体の自然免疫シグナル伝達における、SUMO化を介するdMyd88の機能調節が示唆される。

Figure and Note

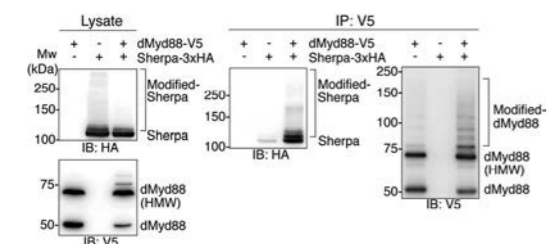


図1: SherpaおよびdMyd88のユビキチン化修飾
ユビキチン化酵素SherpaはToll受容体のシグナル伝達因子dMyd88に結合し、高分子量のユビキチン化dMyd88を生成する。またSherpa自身もユビキチン化されている。

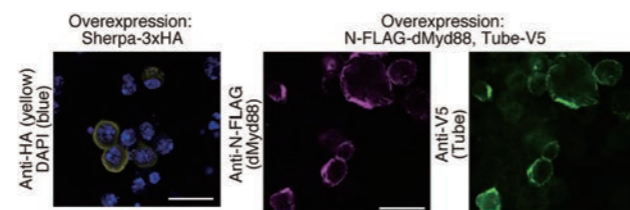


図2: SherpaおよびdMyd88複合体の細胞膜局在
Sherpaは主に細胞膜周辺に存在しており、dMyd88とその下流因子Tubeからなるシグナル伝達複合体が細胞膜に存在するためには、Sherpaの機能が重要である。

Citation: H. Kanoh, L.-L. Tong, T. Kuraishi, Y. Suda, Y. Momiuchi, F. Shishido, S. Kurata, Genome-wide RNAi screening implicates the E3 ubiquitin ligase Sherpa in mediating innate immune signaling by Toll in *Drosophila* adults. *Sci. Signal.* 8, ra107 (2015).

Toll受容体と細胞内シグナル伝達因子を結ぶ新たなメカニズム

ヒト、マウス、昆虫を含めたすべての多細胞生物は、病原体の感染に対抗する機構として自然免疫系を備えています。自然免疫系で働く遺伝子は、生物種を超えて共通していることが多いため、シンプルなモデル生物であるショウジョウバエを用いることで、自然免疫系で働く遺伝子をより簡単に発見してその機能を調べることができます。これまでの研究から、ショウジョウバエで発見されたToll(トール)受容体は、ヒトやマウスに至るまで進化的に保存された病原体センサーであることがわかり、さらに、Toll受容体が細胞膜上で受け取った情報を細胞内のタンパク質が核へと伝える“Tollシグナル伝達経路”が活性化することで、免疫応答が発動することがわかってきました。しかし、このToll経路の活性化をショウジョウバエ個体と同等に再現できる培養細胞はこれまで見つかっていなかったため、どのようなタンパク質がToll受容体からのシグナル伝達を行うのか十分に解明されていませんでした。

私たちは、Toll経路が非常に強く活性化される培養細胞としてDL1細胞を発見しました。DL1細胞を用いて、ショウジョウバエが持つ約15,000遺伝子からToll経路の活性化に関わる遺伝子を網羅的に探索し、これまでに見つかっていなかったシグナル伝達因子としてユビキチン化酵素Sherpa(セルパ)を同定しました。ユビキチン化とは、特定のタンパク質にユビキチンという小型のタンパク質が多数連結される現象で、シグナル伝達に関与することが知られています。Sherpaを失ったショウジョウバエでは病原体感染に対する免疫応答が低下しており、SherpaがToll経路活性化に必須の因子であることが確認されました。また、Sherpaに含まれるHECTドメイン(ユビキチン化を行う領域)がToll経路の活性化に必須であることがわかり、何らかのタンパク質がユビキチン化されると予想されました。そこで、ユビキチン化の標的となるタンパク質を探索すると、Toll受容体に結合するタンパク質dMyd88とSherpa自身であることがわかりました。Sherpaが細胞内のどこに存在しているか調べると、SherpaはHECTドメインを使って細胞膜の近くに存在していました。そして、dMyd88が形成するシグナル伝達複合体が、Toll受容体周辺の細胞膜に存在するためには、Sherpaが必要であることがわかりました。

以上の結果から、SherpaはdMyd88をユビキチン化し、シグナル伝達複合体を細胞膜に局在させることで、Toll受容体からのシグナル伝達を可能にしていると考えられました。今後、ユビキチン化がSherpaやdMyd88の細胞膜局在を制御する機構や、同時に発見したユビキチン様因子SUMOによるToll経路活性化の機構についても、興味を持たれます。

東北大学大学院 薬学研究科 生命機能解析学分野

私たちの研究室では、ショウジョウバエ個体と各種培養細胞を用いて、主に「細胞内共生細菌による宿主へのウイルス抵抗性付与機構」「神経系による感染防御制御と恒常性維持機構」「発生と再生過程におけるエピジェネティック制御機構」「自然免疫における病原体の認識と排除機構」に関する研究を行っています。



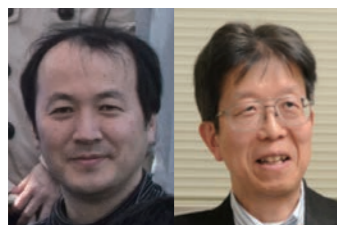
写真: JADCI-JSHDR2014を主催したときのもの

コクタチンの細胞内局在と活性はアセチル化およびKeap1との相互作用によって調節される

The subcellular localization and activity of cortactin is regulated by acetylation and interaction with Keap1

Akihiro Ito^{1,2} Tadahiro Shimazu^{1*} Satoko Maeda² Asad Ali Shah^{1,3} Tatsuhiko Tsunoda^{4,5} Shun-ichiro Iemura⁶ Toru Natsume⁶ Takafumi Suzuki⁷ Hozumi Motohashi⁷ Masayuki Yamamoto⁷ and Minoru Yoshida^{1,2,3,8,†}

- ¹ Chemical Genetics Laboratory, RIKEN, Wako, Saitama 351-0198, Japan.
- ² Chemical Genomics Research Group, RIKEN Center for Sustainable Resource Science, Wako, Saitama 351-0198, Japan.
- ³ Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, 645 Shimo-Okubo, Sakura-ku, Saitama 338-8570, Japan.
- ⁴ Laboratory for Medical Science Mathematics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan.
- ⁵ Department of Medical Science Mathematics, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8510, Japan.
- ⁶ Biomedical Information Research Center, The National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Koto-ku, Tokyo 135-0064, Japan.
- ⁷ Department of Medical Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan.
- ⁸ Japan Agency for Medical Research and Development, CREST Research Project, Chiyoda-ku, Tokyo 100-0004, Japan.
- [†] Corresponding author. E-mail: yoshidam@riken.jp
- * Present address: Cellular Memory Laboratory, RIKEN, Wako, Saitama 351-0198, Japan.



伊藤 昭博 Akihiro Ito
理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室 専任研究員

吉田 稔 Minoru Yoshida
理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室 主任研究員

Contact 吉田 稔 E-mail: yoshidam@riken.jp
所在地: 351-0198 埼玉県和光市広沢2-1
URL: <http://www.riken.jp/SPD/ChemicalGeneticsLab/index.html>

左から伊藤 昭博、吉田 稔

Abstract

コクタチンは細胞運動に必要なアクチンの再構築が起こる細胞辺縁部に局在するF-アクチン結合タンパク質である。われわれは、基底状態ではコクタチンが細胞質と核の間を往復することを見出した。また、コクタチンの細胞辺縁部への局在と細胞運動を促進するコクタチンの結合パートナーとして、酸化ストレス応答に関連する細胞質タンパク質である Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) を同定した。細胞運動を促進するコクタチンの活性は、アセチル化など、さまざまな翻訳後修飾によって調節される。われわれは、アセチル化されたコクタチンが主に核内に局在することと、コクタチンがアセチル化されると、Keap1との結合が阻害されることによって細胞運動が減少することを示した。これらの知見はKeap1が、酸化ストレス応答における役割とは独立して、コクタチンの細胞内局在と活性に影響することによって細胞運動を調節することを示している。

Figure and Note

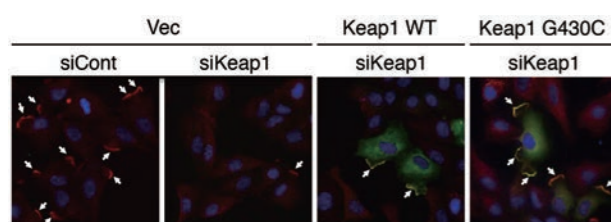


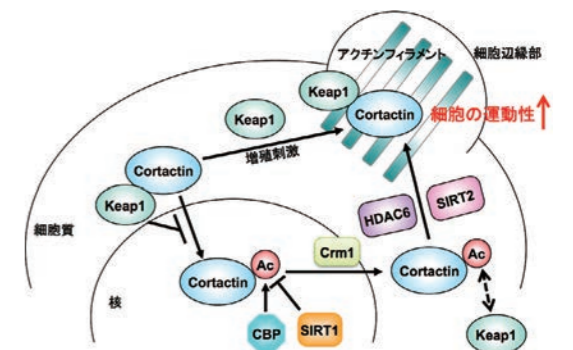
図: Keap1はコクタチンの細胞辺縁部の局在に必須
赤色はコクタチン、緑色はKeap1、青色は核を示す。コクタチンの細胞辺縁部の局在(矢印)は、Keap1をノックダウンすることにより抑制される(左から2番目の図)。さらに、Keap1をノックダウンした細胞に野生型のKeap1(左から3番目の図)あるいはNrf2と結合できない変異型のKeap1(左から4番目の図)を戻すと、コクタチンの細胞辺縁部の局在が復活する。

Citation: A. Ito, T. Shimazu, S. Maeda, A. A. Shah, T. Tsunoda, S.-i. Iemura, T. Natsume, T. Suzuki, H. Motohashi, M. Yamamoto, M. Yoshida, The subcellular localization and activity of cortactin is regulated by acetylation and interaction with Keap1. *Sci. Signal.* **8**, ra120 (2015).

がん細胞の運動を制御する新しい仕組みを発見

がんは無限に増殖するだけでなく、正常な組織との境界を越えて浸潤、あるいは転移することにより、身体の各所で増大し、その結果宿主の生命を脅かします。アクチン結合タンパク質であるコクタチンは、がん細胞の浸潤、転移に関わる重要な因子で、多くの浸潤がんが高発現していることが知られています。コクタチンの活性は、アセチル化などの翻訳後修飾により制御されていることが知られていましたが、その詳細なメカニズムは明らかになっていませんでした。

私たちは、作製したコクタチンのリジンアセチル化を特異的に認識する抗体を用いて、ヒストンアセチル化酵素であるCBPが主要なコクタチンのアセチル化酵素であることを発見しました。コクタチンは細胞質に存在するタンパク質ですが、CBPは主に核内に存在します。この一見矛盾した知見からコクタチンは細胞質と核を行き来しているのではないかと考えました。実際、核外移行の阻害剤であるレプトマイシンBを用いて、コクタチンが核と細胞質を行き来するシャトルタンパク質であることを突き止めました。次に、コクタチンの複合体解析を行ったところ、酸化ストレス応答転写因子Nrf2の負の制御因子として知られるKeap1を新しいコクタチンの結合タンパク質として発見しました。RNA干渉法によりKeap1をノックダウンさせたところ、コクタチンは核にも顕著に観察されるようになったことから、Keap1はコクタチンを細胞質にとどめおく機能があることが分かりました。コクタチンは増殖刺激により細胞の辺縁部に移行し、そこでアクチン重合を促進することにより、がん細胞の運動を増進させます。私たちは、増殖刺激に応答してKeap1はコクタチンとともに細胞辺縁部に移行すること、Keap1がないとコクタチンは辺縁部に移行できないことを明らかにしました。さらにKeap1を欠損させると細胞の運動性が低下することが分かり、Keap1が細胞運動に重要な働きを持つことが明らかになりました。コクタチンのアセチル化は、細胞の運動性を低下させることが知られています。そのメカニズムの一端として、コクタチンのアセチル化は、Keap1との結合を阻害することにより、細胞辺縁部への移行を阻害することを見出しました。これらの研究成果により、これまで酸化ストレス応答の制御因子であると考えられていたKeap1による新しいがん細胞運動性制御メカニズムを明らかにすることができました。



本研究成果により、Keap1・コクタチンシステムによる新しいがん細胞の運動制御メカニズムの存在が明らかになりました。本研究成果から、Keap1とコクタチンの相互作用の阻害は、がん細胞の浸潤や転移を抑えると考えられます。コクタチンのアセチル化はKeap1との結合を弱めるため、コクタチン脱アセチル化酵素の阻害薬はがん転移の治療薬になる可能性があります。

国立研究開発法人 理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室

私たちの研究室は、ケミカルバイオロジーの手法、すなわち化学(化合物)の力を借りて、様々な生命現象を明らかにすることを目指しています。また、基礎研究によりがんなどの疾患との関係が明らかになった分子については、その阻害薬を化合物ライブラリーから探索・同定し、創薬を指向した応用研究も行っています。今回の研究成果から、コクタチン脱アセチル化酵素の阻害薬はがん転移の治療薬になる可能性が示されました。そこで現在、コクタチン脱アセチル化酵素の阻害薬開発研究を行っています。



複雑なGタンパク質選択性がGタンパク質共役型受容体の作用を決定する

Distinct profiles of functional discrimination among G proteins determine the actions of G protein-coupled receptors

Ikuo Masuho¹ Olga Ostrovskaya¹ Grant M. Kramer^{1,2} Christopher D. Jones^{1,2} Keqiang Xie¹ and Kirill A. Martemyanov^{1*}

¹ Department of Neuroscience, The Scripps Research Institute Florida, Jupiter, FL 33458, USA.

² Harriet L. Wilkes Honors College, Florida Atlantic University, Jupiter, FL 33458, USA.

* Corresponding author. E-mail: kirill@scripps.edu



増保 生郎 *Ikuo Masuho*

Senior Research Associate, Department of Neuroscience, The Scripps Research Institute Florida

Contact

E-mail: imasuho@scripps.edu

所在地: 130 Scripps Way, 3C2, Jupiter, Florida 33458, USA

URL: http://www.scripps.edu/martemyanov/

Abstract

三量体Gタンパク質共役型受容体(GPCR)は、ほぼすべての生理機能に必須の役割を果たし、疾患治療の重要なターゲットとして知られている。分子レベルでは、GPCRが担う役割の多くが α 、 β および γ サブユニットから構成される三量体Gタンパク質(Gタンパク質)を介している。GPCRは α サブユニットとグアノシン三リン酸(GTP)の結合を促進することによってGタンパク質を活性化し、細胞内情報伝達系をスタートさせる。哺乳類のゲノム上には、16種類の α サブユニットが存在し、それぞれが独自の機能を持っている。われわれは生きた細胞内でGタンパク質の活性化をモニターすることが可能な光学的測定法を開発した。この手法を用いて、個々のGPCRがどの α サブユニットと共役するのか、その共役プロファイリングを行った。われわれの実験系では、個々の α サブユニットのシグナル強度、ならびにGPCRがGタンパク質を活性化する速度を測定することができる。この二つのパラメーターを用いたプロファイリングの結果、個々の受容体は今まで考えられていた以上に数多くのGタンパク質と共役し、人の指紋(フィンガープリント)のように複雑かつ特有な共役プロファイルを持っていることを見いだした。また驚くべきことに、GPCRのリガンドであるフルアゴニスト、部分アゴニスト、アロステリックモジュレーターおよびアンタゴニストがフィンガープリントを変え、GPCRによって誘導される細胞内情報伝達系にバイアスをかけていることが分かった。さらに、細胞内の制御因子がGPCRのフィンガープリントを変化させることを明らかにした。このことは、制御因子の発現量の違いが、細胞特異的な細胞内情報伝達系と細胞応答を引き起こし得ることを意味している。これらのデータは、細胞の生理機能を制御するGPCRの多様な機能が、多様なフィンガープリントに起因していることを示唆している。またリガンドによってフィンガープリントをコントロールできるGPCRの特性をこれからの創薬に利用できることを示している。

Figure and Note

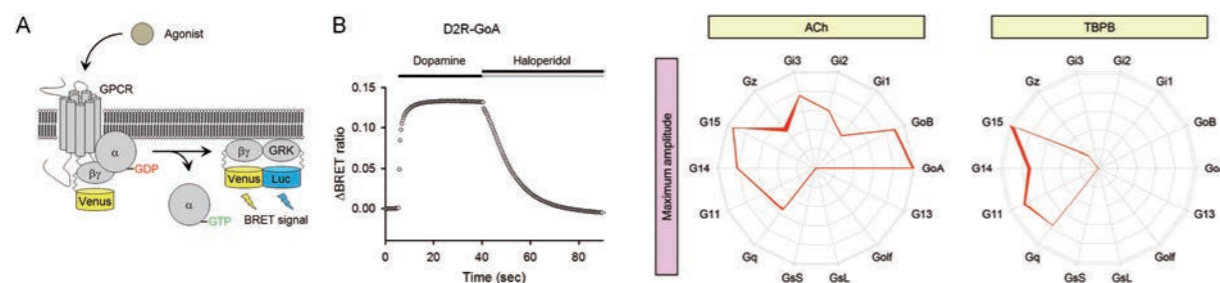


図1: Gタンパク質の活性化をモニターする光学的測定法
(A) アゴニストでGPCRを活性化すると α サブユニットとVenusを付加された $\beta\gamma$ ダイマーに解離する。解離した $\beta\gamma$ ダイマーがルシフェラーゼを付加したセンサーに結合し、BRETシグナルを発生する。(B) 実際の実験の例

図2: 化学合成した薬でGPCRとGタンパク質の共役パターンを変えることができる
アセチルコリン(左)あるいはTBPB(右)によって誘導されたM3アセチルコリン受容体とGタンパク質の共役パターン

Citation: I. Masuho, O. Ostrovskaya, G. M. Kramer, C. D. Jones, K. Xie, K. A. Martemyanov, Distinct profiles of functional discrimination among G proteins determine the actions of G protein-coupled receptors. *Sci. Signal.* 8, ra123 (2015).

薬の作用機序の解明とより良い新薬の開発を可能にする新技術

ヒトの体は、約 4×10^{13} もの細胞から構成されていて、それらが互いにコミュニケーションをとることによって健康を維持しています。このコミュニケーションにはホルモンや神経伝達物質などの化学物質が用いられ、細胞膜上に存在する受容体がそれを受け取ることによって細胞応答を引き起こします。ヒトゲノム上には800種以上のGタンパク質共役型受容体(GPCR)の存在が知られ、受容体としては最も多いことが知られています。また、GPCRはすべての生理現象に関わっていると考えられており、その異常は数多くの疾患を引き起こします。そのため創薬の重要なターゲットとなっていますが、薬の作用機序はいまだに良く分かっておらず、創薬の障害となってきました。このことから、最も大切な研究課題は、「GPCRがどのようにして細胞外の化学物質情報を細胞内の化学反応へと変換しているのか?」ということであり、その分子機構の解明だと考えられます。

すべてのGPCRはその名の通り、Gタンパク質を活性化する分子です。Gタンパク質は $G_{i/o}$ 、 G_q 、 G_s 、 $G_{12/13}$ の4つのサブファミリーに分類され、それぞれが異なるエフェクターを制御することによって細胞応答を誘導します。そのため、下流の情報伝達系(cAMP、カルシウム等)を測定することによって、どのGタンパク質が活性化されたのかを推測する間接的な手法がとられてきました。しかし、Gタンパク質は16種類あり、それぞれが特有の機能を持っています。また、複雑な情報伝達系のクロストークのため、下流から上流を推測することは困難であることが知られるようになってきました。そこで、我々はたった一つの実験系でほぼすべてのGタンパク質の活性を直接測定できる生細胞イメージング技術を開発しました。この実験系を用いて、個々のGPCRが今まで考えられていた以上に幅広い種類のGタンパク質を活性化し、それぞれ異なったGタンパク質選択性を示すことを明らかにしました。また、化学合成した低分子化合物によって、そのGタンパク質選択性をコントロールできることを示しました。

このことは、治療に有効なGタンパク質を活性化する一方で、副作用を誘導する他のGタンパク質の活性を抑制できることを示しています。将来、われわれの実験系を用いてGPCRの機能解析が進めば、その機能を薬で制御し、理想的な新薬の開発に貢献できると期待されます。

これからのGPCR情報伝達系の解明と創薬に期待して

2000年代にヒトゲノムの配列が決定され、当時から創薬の重要なターゲットであったGPCRが我々ヒトには1,000種類近くあることが分かり、宝の山が見つかったと騒がれた時期がありました。しかし、その後GPCRをターゲットとした創薬は必ずしもうまく行きませんでした。その大きな理由の一つはおそらくGPCRの機能が良く分からないまま創薬が行われてきたからだと考えられます。今回我々が開発した実験系は、これまで薬理学的実験でしか活性を調べることができなかったGPCRの機能を、より分子メカニズムに即した生化学的なパラメーターを取得して調べることを可能にしました。GPCRの結晶構造が進む現在、構造と機能の解明を推し進め、今後より効率的に、より良い薬を創っていくことが可能になると期待されます。

写真: スクリプス研究所フロリダキャンパス





Join AAAS. Get instant access to *Science*. Support all of the sciences.

When you subscribe to *Science*, you become part of the American Association for the Advancement of Science (AAAS), a nonprofit community of more than 120,000 members worldwide who believe in the power of science to make the world a better place. AAAS is hard at work promoting science in government, schools, and in the public commons around the globe.

AAAS's award-winning journal *Science* offers the top peer-reviewed research across multiple disciplines. With your subscription, you'll get:

- 51 weeks of home delivery of *Science*
- Instant online retrieval of every *Science* article ever published, dating back to 1880
- Full access to the *Science* mobile site and apps
- Career advice, webinars, blogs and fascinating features from <http://membercentral.aaas.org/>
- Members-only newsletters, and much more

With increasing public skepticism about science—and public funding for research more uncertain than ever—our work has never been more important. Join hands with us today!

Visit promo.aaas.org/joinaaas. Together we can make a difference.

Science
AAAS

Open access. Open for discovery.

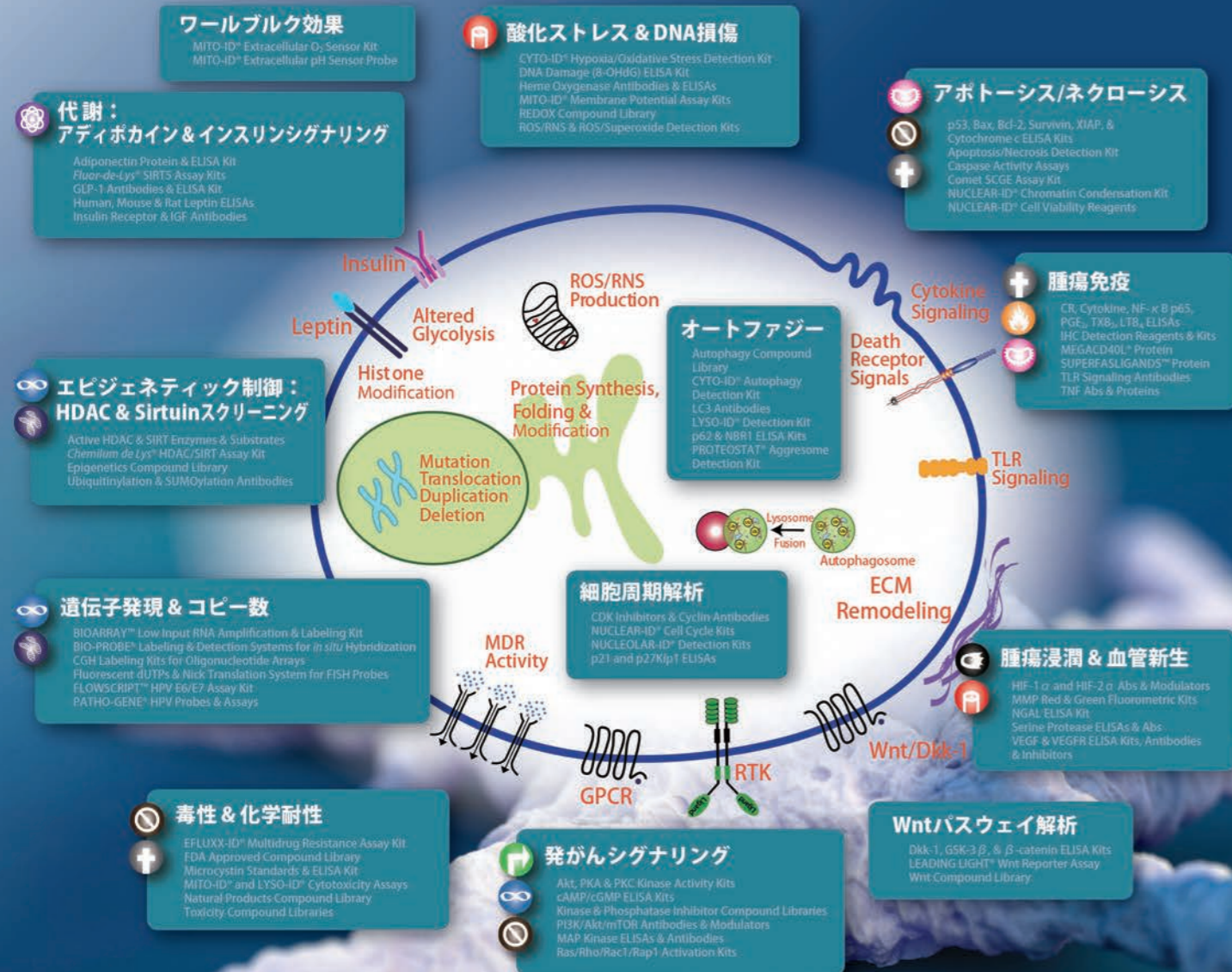


***Science Advances*, the new open-access journal from AAAS, is now available online.** Featuring innovative, multidisciplinary articles, *Science Advances* offers the high quality, peer-reviewed research you expect from the publishers of *Science*—in an open, digital-only format. Read the latest findings and submit your research at scienceadvances.org.

ScienceAdvances
AAAS

Innovation to meet the needs of evolving cancer hallmarks

がん研究に貢献する トータルソリューション



エンゾライフサイエンス社プラットフォーム



コスモ・バイオはエンゾライフサイエンス社と世界的に提携しています
製品はコスモ・バイオが責任をもってお届けいたします

Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

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



正解は! F(ab')₂ のポーズ!



“Y” 字型の抗体分子は、ペプシン処理で F(ab')₂ 領域と Fc 断片に切断されます。

抗体百科 Web版

国内最大級の抗体検索サイト

充実した品揃え!

国内外の抗体供給メーカーから
100万品目以上の抗体を販売しております。

圧倒的な国内在庫量で納期短縮!

主要なヒトターゲット約 14,000 種類を在庫しております。

あなたの抗体も「抗体百科」にエントリー!

お手持ちの抗体を共同販売ブランド「CAC (CosmoBio Antibody Collection)」に
エントリーしませんか?

コスモ・バイオは大学や研究機関由来の抗体製品化もお手伝いしています。

詳しくは...

コスモ 抗体ブランド

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 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 4 ページ「*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

<http://www.cosmobio.co.jp/> にて公開中