

2017 Issue

Science Signaling

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2016

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* 2016では、2016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、2017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

2017年3月

© 2017 American Association for the Advancement of Science (AAAS). All Rights Reserved.

Science Signaling

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2016

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2015年に刊行され、通算3号目を数えることとなります。本年の冊子には、2016年に*Science Signaling* で発表された8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。

昨年シグナル伝達研究の成果の中で *Science Signaling* の編集委員が最も重要なものとして選んだ Signaling Breakthrough of the Year 2016 には、神経変性疾患や記憶におけるシグナル伝達の生理学的役割、T細胞がシグナルを受け取る「免疫シナプス」の機能、細胞栄養とストレス応答の関連性、ミトコンドリア代謝の定量分析などのトピックが挙げられました。脳神経科学や免疫学など、急発展を遂げる分野でさらに重要性を増しているシグナル伝達の新しい知見について紹介した Signaling Breakthrough of the Year 2016 の全文も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。

2017年3月
編集チーム一同

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2016

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

2017年1月3日号
Editorial Guide
2016: シグナル伝達のブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー 6
2016: Signaling Breakthroughs of the Year
Science writer based in USA Elizabeth M. Adler

1月19日号
Research Article
プリン作動性 P2Y₆ 受容体はアンジオテンシン AT1 受容体と
ヘテロ二量体を形成してアンジオテンシン II 誘発性高血圧を促進する 14
Purinergic P2Y₆ receptors heterodimerize with angiotensin AT1 receptors to promote
angiotensin II-induced hypertension
自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター(生理学研究所) 心循環シグナル研究部門 特任助教
総合研究大学院大学 生理科学専攻 西村 明幸
自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター(生理学研究所) 心循環シグナル研究部門 教授
総合研究大学院大学 生理科学専攻 九州大学大学院 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室 教授
科学技術振興機構 さきがけ 西田 基宏

2月2日号
Research Article
MEK/ERK モジュールを介する状況特異的なフローが ERK 単一および
二重リン酸化の細胞およびリガンド特異的なパターンを生み出す 16
Context-specific flow through the MEK/ERK module produces cell- and ligand-specific patterns
of ERK single and double phosphorylation
Postdoctoral Researcher, Division Systems Biology of Signal Transduction, German Cancer Research Center (DKFZ)
(現 Investigator Bioinformatics, Cellzome, a GSK company) 岩本 直

2月9日号
Review
細胞機能の全合成を目指して:
合成生物学によって細胞ダイナミクスを再構成する 18
Toward total synthesis of cell function: Reconstituting cell dynamics with synthetic biology
Associate Professor, Department of Cell Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University
Center for Cell Dynamics, School of Medicine, Johns Hopkins University/ 科学技術振興機構 さきがけ 井上 尊生
Postdoctoral Fellow, Department of Cell Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University
Center for Cell Dynamics, School of Medicine, Johns Hopkins University 中村 秀樹

3月15日号
Research Resource
遺伝子にコードされたプローブを用いたマウス酸化還元状態の組織検査 20
Mouse redox histology using genetically encoded probes
Postdoctoral Fellow, Division of Redox Regulation,
DKFZ-ZMBH (German Cancer Research Center-Center for Molecular Biology of the University of Heidelberg) Alliance, DKFZ
(現 東京薬科大学 生命科学部 分子生命科学科 分子生物学研究室 助教) 藤川 雄太

5月17日号
Research Article
細胞内カチオンチャンネル TRIC-B を欠損したマウスはコラーゲン産生を損ない、
骨石灰化不全を示す 22
Mice lacking the intracellular cation channel TRIC-B have compromised collagen production and
impaired bone mineralization
京都大学 IPS 細胞研究所 未来生命科学開拓部門 特定研究員 趙 成珠
京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野 特定助教
京阪神次世代グローバル研究リーダー育成コンソーシアム(K-CONNEX) 市村 敦彦

8月23日号
Research Article
Ras および TGF- β シグナルは Δ Np63 転写プログラムを促すことによって
がんの進行を促進する 24
Ras and TGF- β signaling enhance cancer progression by promoting the Δ Np63 transcriptional program
東京大学大学院 医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 教授 宮園 浩平
Postdoctoral Fellow, Ludwig Cancer Research Eleftheria Vasilaki
Director, Ludwig Cancer Research Carl-Henrik Heldin

10月11日号
Research Article
脂質ラフトにおいてリポアラビノマンナンがラクトシルセラミドに結合することは
ヒト好中球によるマイコバクテリアの貪食に不可欠である 26
Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of
mycobacteria by human neutrophils
順天堂大学 医療看護学部 生化学研究室 / 順天堂大学大学院 医学研究科 環境医学研究所 准教授 中山 仁志
順天堂大学 医療看護学部 生化学研究室 / 順天堂大学大学院 医療看護学研究科
感染制御看護学分野 / 順天堂大学大学院 医学研究科 環境医学研究所 教授 岩淵 和久

11月22日号
Research Article
インスリン刺激の時間パターンおよび濃度による選択的遺伝子発現制御 28
Selective control of up-regulated and down-regulated genes by temporal patterns and doses of insulin
東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻 佐野 貴規
東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 川田 健太郎
東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 特任助教 大野 聡
東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 教授 黒田 真也

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)。論文の理解、評価に必要な場合のみ Supplementary Material 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。

Perspectives :

最新の研究の進展について著者の見解を主張する記事。

Focus :

Science Signaling で発表された論文に対するコメントリー。

原稿の作成

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 Materials :

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。サイズが大きなデータ、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、Instructions 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。

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

E-mail: sciencesignalingeditors@aaas.org

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

Science Signaling 投稿規定

Information for Authors

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

2016: シグナル伝達のブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー

2016: Signaling Breakthroughs of the Year

Elizabeth M. Adler*

2016年のシグナル伝達に関するブレイクスルー研究は主に、神経科学、免疫学および代謝の分野に集中していたが、その他にも植物ホルモンのシグナル伝達や、細菌による宿主のシグナル伝達経路の操作も話題となった。細胞シグナル伝達領域のさらなる成熟を反映してか、本年のブレイクスルー研究の多くはヒト疾患の発症機序または治療に意味を持つものであった。

2017年の幕開けに、本誌編集者はシグナル伝達の「ブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー」第15版をここにお届けする。このブレイクスルー研究のリストは、本誌編集委員会の委員の皆様から推薦された候補研究と、さらに本誌編集者の目に留まった候補研究から編纂している。2016年のブレイクスルー候補研究は主に、神経科学、免疫学および細胞代謝の分野に集中していたが、その他にも植物ホルモン受容体シグナル伝達の機序や、細菌による宿主シグナル伝達経路の操作も興味深い話題であった。具体的には、今年のブレイクスルー研究として、リガンド-受容体相互作用、シナプス可塑性の予想外の機序、独創的なキナーゼ阻害方法、細胞の栄養欠乏の結果への洞察、さらにミトコンドリアメタボロームの定量分析が挙げられた。細胞シグナル伝達領域のさらなる成熟を反映してか、本年の候補研究の多くはヒト疾患の発症機序に関するもの、またはその治療への応用であった。本版のシグナル伝達「ブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー」には、以下の方々から候補研究を推薦頂いた。Ivan Dikic(ゲート大学医学部、ドイツ)、Henrik Dohlman(ノースカロライナ大学チャペルヒル校、米国)、James Faeder(ピッツバーグ大学医学部、米国)、Johannes W. Hell(カリフォルニア大学デービス校、米国)、Kevin Janes(バージニア大学、米国)、Rune Linding(コペンハーゲン大学、デンマーク)、Li Ma(テキサス大学 MDアンダーソンがんセンター、米国)、Samuel Miller(ワシントン大学、米国)、Klaus Okkenhaug(バブラハム研究所、英国)、Norbert Perrimon(ハーバード大学医学部、米国)。

Science writer based in USA.

* Corresponding author. Email: sciencesignalingeditors@aaas.org

Dohlmanは、神経系の疾患にGタンパク質共役受容体(GPCR)シグナル伝達に関する洞察を応用した2つの研究を推薦し、より適切なオピオイドの設計のための計算論的アプローチに我々の関心を集めた(図1A)(1)。鎮痛適応のオピオイドの使用は何千年も前から行われているが、その鎮痛特性は依存症や潜在に致死的な呼吸抑制などの重篤な副作用により相殺されてしまい、その乱用は世界的に深刻な問題となっている(1,2)。モルヒネおよび類縁のオピオイド鎮痛薬は、 G_{α_i} および β -アレスチン依存性のシグナル伝達経路を共に活性化する μ -オピオイド受容体GPCRのアゴニストとして作用する。 μ -オピオイド受容体シグナル伝達は G_{α_i} を介して鎮痛作用を媒介し、一方で β -アレスチンを介したシグナル伝達は好ましくない副作用を媒介すると考えられている。Manglikら(1)は、受容体を新たな方法で固有の立体構造に安定化させる化合物を同定することを目的に、近年報告された μ -オピオイド受容体の結晶構造を用い、300万を超える化合物をリガンド結合ポケットに計算的にドッキングさせた。著者らは続いて構造に基づく最適化法を用いて G_{α_i} 偏向シグナル伝達を示す化合物「PZM21」を合成し、特筆すべきことに、マウスにおいて長時間持続する強力な鎮痛作用を引き出した。その上、PZM21は呼吸抑制または依存様行動を引き起こさなかった。Dohlmanが挙げた2報目の候補研究は、作動性GPCRリガンドの1つとして細胞性プリオンタンパク質PrP^{Sc}を同定した研究である(3)。神経変性のプリオン疾患においてミスフォールドしたプリオンが重要な役割を果たすことはよく知られているものの、PrP^{Sc}の生理機能は依然として不明である。ニューロンのPrP^{Sc}を除去したマウスでは、慢性の脱髄性多発ニューロパチーが生じるこ

とに注目し、Küfferら(3)は、PrP^{Sc}欠損マウスの坐骨神経におけるcAMP(環状アデノシンリン酸)の量は、野生型マウスの神経における場合よりも少ないことを明らかにした。このことは、PrP^{Sc}のシグナル伝達にGPCRが介在する可能性を示唆している。さらなる解析により、PrP^{Sc}はシェワン細胞上のAdgrg6(接着Gタンパク質共役受容体G6、別名Gpr126)のリガンドとして作用し、ミエリンの恒常性を促進することが明らかになった。PrP^{Sc}の生理学的役割についての洞察に加え、本研究は、脱髄性の末梢性ニューロパチー治療への示唆に富むと同時に、プリオン疾患治療のアプローチの1つであるPrP^{Sc}の不活性化への試みという戦略に及ぶ可能性を持つと考えられる。

プロテインキナーゼはGPCRと同様に種々の病態に関与していることから、有望な治療標的である。グリコーゲン合成酵素キナーゼ3(GSK-3)の過活性が、アルツハイマー病を含む種々の神経疾患に寄与している可能性がある。しかし他のプロテインキナーゼと同様、強力かつ選択的な阻害薬の開発は困難な課題であった。アデノシン5'-三リン酸(ATP)結合部位を標的とするキナーゼ阻害薬は特異性を欠く傾向があり、一方でキナーゼ基質に由来する競合的阻害薬は脆弱な傾向がある。本誌編集者らは、固有の作用機序を有する基質由来のGSK-3阻害薬の開発について述べたLicht-Muravaら(4)による研究を推薦した(図1B)。この化合物L807mtsは他の基質由来の阻害薬と異なり、GSK-3のリン酸化を受け、その後酵素と強力に結合することで、最終的に触媒部位で選択的基質から強力な阻害薬に変換される。アルツハイマーモデルのマウスにおいてL807mtsはその有望な将来性

が示され、選択的かつ効果的なキナーゼ阻害薬の新たなクラスの開発の先駆けとなるかもしれない。

神経科学をテーマとする最後の候補研究は、Hellによる、海馬CA1領域におけるシナプス伝達の長期抑圧(LTD)の原因となっている機序についての興味深い展開である(5)。長期増強(LTP)およびLTDなどの興奮性伝達の活性の持続的な変化は、学習および記憶への関与が示唆されている。こうしたプロセスが広範に研究されているCA1領域では、LTPはシナプス後AMPA型グルタミン酸受容体(AMPA)の機能および局在化の亢進に依存し、一方でLTDはAMPAの機能および局在化の低下に依存している。Hellが「魅力的」と述べているこの研究において、Sandersonら[(5)、関連解説(6)を参照]は、予想外にも、LTDの誘発は Ca^{2+} 透過性AMPAのシナプス後膜への一過性の動員に依存していることを明らかにした。著者らは、AMPA GluA1サブユニット上のセリンのAKAP結合プロテインキナーゼAによるリン酸化に反応して動員が生じ、その後、 Ca^{2+} -活性化ホスファターゼであるカルシニューリンによるこの同一セリンの脱リン酸化後に、それらの除去が生じることを明らかにした。

複雑さの点で免疫系は神経系に引けを取らない。可塑性を媒介するネットワークにシナプス後タンパク質の構築が重要であるように、免疫系細胞の受容体複合体中にあるシグナル伝達タンパク質の構築は、その機能において重要である。抗原提示細胞とT細胞の間の接触部位は、神経系のシナプスと類似していることから「免疫シナプス」と呼ばれている。これらはいずれも、2つの細胞が相互伝

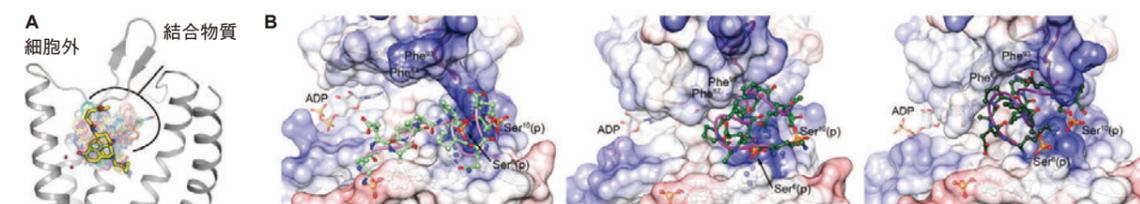


図1 創薬のブレイクスルー

Manglikら(1)およびLicht-Muravaら(4)はいずれも計算論的アプローチを用いて、オピオイド受容体を標的とする新薬(A)あるいはキナーゼGSK-3の新たな阻害機序(B)をそれぞれ発見した。[パネル(A)はManglikら(1)による論文を雑誌Natureの許可を得て引用。パネル(B)はLicht-Muravaら(4)の論文から引用。]

分散したバルク相

非リン酸化LATタンパク質が膜全体に広がっているが、規則正しい膜領域(黄色)に多く認められる。

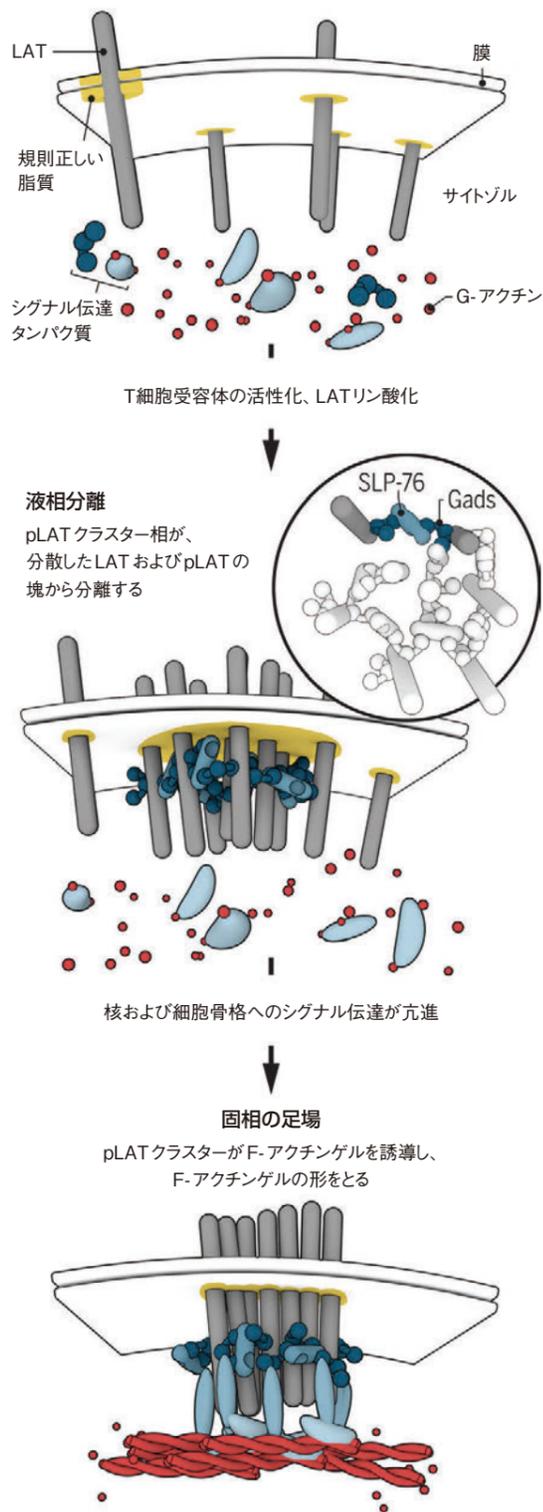


図2 流動性クラスターの形成が、TCRから下流のシグナル伝達を促進する。
[DustinとMiller(8)から許可を得て引用]

達する、高度に構築され動的に調節される部位である。T細胞受容体(TCR)シグナル伝達が活性化される際には、クラスターを形成する下流のシグナル伝達分子を動員する、受容体から多タンパク質シグナル伝達複合体への再構築が行われる。免疫シナプスの構築はin vitroで再現できることから、広範に研究されている。FaederとLindingはいずれも、Suらによる、モデル膜とTCRシグナル伝達経路の12の成分からなるin vitro系を用いて膜貫通タンパク質LAT(T細胞活性化リンカー)とその結合パートナーのリン酸化依存性の会合を検討した研究を推薦した〔7〕、関連解説〔8〕を参照〕。著者らは、そうした会合により相分離が生じ、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)のシグナル伝達を含む下流のシグナル伝達を促進する流動性クラスター形成のための駆動力となることを見出した(図2)。タンパク質が秩序だった流動性の高分子構造に動的に構築されてシグナル伝達を促進し得るという考えが理論化され、同研究は、「相転移が介在するサイトゾル内のシグナル伝播」というこのモデルにおける明確な実験的裏付けを提示した。Faederによれば、「本論文は、組換えタンパク質を用いたin vitro再構築アッセイとジャーカットT細胞を用いた実験を組み合わせ、LATと他のシグナル伝達分子の多面的相互作用によってどのようにT細胞活性化に不可欠なマイクロクラスターが生じ得るかを明らかにしている。一連の実験は以下の複数の理由により重要である:(i)細胞質膜の多面的なタンパク質-タンパク質相互作用が、シグナル伝達プロセスに必要な重要なシグナル伝達複合体の核となり得ることを実証している。これは以前まで仮説に過ぎず、直接確認されていなかった。(ii)現在まで十分な説明が得られていなかった、TCRマイクロクラスターという現象に機構的な説明を付与している。(iii)そのような相互作用によってクラスター化された明確な相が形成され、この相が形成される傾向は(略)入力シグナルの量に対して二相性の応答を示すだろうという理論およびモデリングの予測〔9〕を確認した。(iv) Valeの研究室が先駆けて使用したTCRシグナル伝達研究のための新規の再構成システムは、受容体が介在するシグナル伝達の系統的研究の強力な新規ツールとなった」。さらにFaederは、Huangらによる別の研究〔10〕では類似した再構成システムを用い、LATクラスター形成によ

るMAPKシグナル伝達促進のさらなる機構的根拠が得られたことを指摘している。

生産的なT細胞活性化は、同種抗原によるTCRの刺激のみならず、共刺激シグナルにも依存している。免疫シナプス中でTCRと共局在しているCD28は、十分に研究されている共刺激タンパク質である。しかし、CD28が共刺激シグナルをT細胞に伝達する機序は、未だに議論的である。Okkenhaugは、CD28シグナル伝達への関与が過去に示唆されていた細胞質タンパク質〔11〕であるRLTPR(RGD、ロイシンリッチリピート、トロポモジュリン、およびプロリンリッチドメイン含有タンパク質)の、リンパ球の機能における役割を明らかにした1対の論文を推薦した。Wangら〔12〕は、RLTPR欠損者は免疫不全であり、そのCD4⁺T細胞はCD28刺激に応答できず、B細胞は機能不全のB細胞受容体シグナル伝達を行うことを見出した。またRoncagalliら〔13〕は、RLTPRが、CD28のC末端をCARD11/CARMA1複合体に結合させ、さらに活性化T細胞において刺激される転写因子である核因子κB(NF-κB)の活性化につながるアダプターとして働くことを明らかにした。Okkenhaugは推薦をする中で、「正確な分子相互作用をマッピングするためにはより多くの研究が必要であるが、この一連の研究で最終的に、T細胞における固有のCD28依存性シグナル伝達経路が明確にされている」と述べている。

がん細胞が免疫系による破壊を回避するシグナル伝達経路をより深く理解することで、がん免疫療法のより効果的なアプローチを導けるものと期待される。そのような機序の1つが、T細胞上に認められる受容体であるPD-1(プログラム細胞死タンパク質1)と、マクロファージや樹状細胞のみならず種々のがん細胞上に認められるPD-L1(プログラム細胞死リガンド1)との相互作用である。腫瘍細胞のPD-L1とPD-1との結合が免疫チェックポイントシグナル伝達を刺激するとT細胞の阻害と免疫応答の抑制が生じ、その結果腫瘍細胞が免疫応答を回避できる機序がもたらされる。Maは、PD-L1の安定性とそれによる存在量の制御に関与する機序を探索した1対の論文を推薦した〔14,15〕。様々な種類のがんが慢性炎症と関連し

ており、Limら〔14〕は、がん細胞において炎症促進性サイトカインである腫瘍壊死因子-α(TNF-α)がどのようにPD-L1の安定性を促進しているかを検討した。Maが説明しているように「(著者らは)マクロファージが分泌する炎症性サイトカインTNF-αは、哺乳動物のCOP9シグナルソーム複合体の5番目の成分(CSN5)の発現を誘導しPD-L1の脱ユビキチン化および安定化をもたらすことで、乳がん細胞におけるPD-L1の発現を増加させることを示した」。ウコン由来の物質であるクルクミンによりCSN5を阻害すると、複数のがんモデルマウスにおいてPD-L1の存在量が減少し、免疫チェックポイント抗体療法に対する感受性が高まった。同じ研究グループによる2報目の論文では、Liらが、N-グリコシル化およびユビキチン化によるPD-L1存在量の制御について検討した。

その名が示す通り、ユビキチン(およびユビキチン化)はすべての真核細胞において認められ、ほぼすべての細胞プロセスの制御に関与することが示唆されている。ユビキチン化は3つの酵素によるカスケードとして生じる。ユビキチンはE1酵素により活性化され(このプロセスでATPを必要とする)、活性化されたユビキチンがE2ユビキチン結合酵素に運ばれ、最後にE3ユビキチンリガーゼにより基質との共有結合が生じる。原核生物のシグナル伝達にユビキチン化は用いられないが、種々の細菌性病原体はその標的である真核生物においてユビキチンシグナル伝達を調節する脱ユビキチン酵素およびE3ユビキチンリガーゼなどのエフェクタータンパク質を発達させてきた〔16-19〕。Dikicは、ATPおよびE1、E2酵素とは独立した並行ユビキチン経路が媒介する予想外の新たなツールを病原体ツールボックスに追加した、Qiuら〔16〕による論文を推薦した。レジオネラニューモフィラ菌(*Legionella pneumophila*)のSdeAエフェクタータンパク質は、NAD⁺(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)依存性のユビキチン化プロセスを触媒し、この際、ユビキチンは宿主のRabタンパク質に運ばれる前にアデノシン5'-二リン酸(ADP)リポシル化を受け。この驚くべき進歩に続き、Bhogarajuら〔19〕は、SdeAが(古典的なユビキチン化経路のように)リジン上のユビキチン化を触媒するのではなく)セリン残基上における標的タンパク質のユビキチン化を触媒すること、さらに、ADP-

リポシル化ユビキチンはホスホリポシル化ユビキチンに変換され、これが真核生物のポリユビキチン化カスケードを阻害することを明らかにした。

T細胞およびB細胞の受容体は特定の抗原に特異的に結合するが、Toll様受容体(TLR)ファミリーに見られるようなパターン認識受容体は、病原体の侵入や組織損傷において生じる特異性の低い「危険シグナル」を感知する。Janesは、細菌感染に関連するシグナルと組織損傷に関連するシグナルが、同一のTLRを介してどのようにまったく異なるマクロファージ応答を誘導するのか(図3)を検討したPiccininiら(20)の研究を推薦した。Janesが説明しているように、「(この)研究では、まったく異なる2つのリガンド(リポ多糖とテネイシンC)が共通の表面受容体(TLR4)の下流でどのようにシグナル伝達するのかという、興味深い解析を行っている。著者らは、サイトカインの分泌とメタプロテアーゼ活性化において顕著な相違があること(略)また、これらは古典的TLR4シグナル伝達(p38、JNKおよびNF- κ B)においてより定量的および時間依存的な違いを伴っていることを報告している。定性的に異なる転帰が、TLR4シグナル伝達の大きさおよび動態によって、あるいは個々のTLR4リガンドを認識する他の受容体とのクロストークによってどのように[決定される]のかを考えることは面白い。TLR4のリガンドとしても作用するテネイシン-Cやバイグリカンなどのマトリセルラータンパク質についても、シグナル伝達に関連する興味深い問いが残されている」。

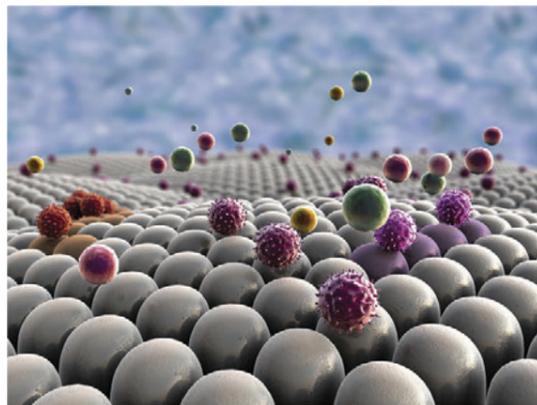


図3 マクロファージは同じ受容体から個別のシグナルを生じさせることができる。

パターン認識受容体は免疫系細胞に危険を警告する重要な機序であるものの、免疫系も細胞ストレスシグナルに伴う状態、例えばアミノ酸の飢餓や小胞体ストレスなどを感知して応答する場合がある。Millerは、アミノ酸飢餓の間、アミノ酸の欠乏を感知する統合的ストレス応答の1要素であるキナーゼGCN2(general control nonderepressible 2)がインフラマソームの活性化を阻害して腸の炎症を抑制することを示した、Ravindranら(21)の研究を推薦した。さらに(アミノ酸飢餓応答を誘発するために)低タンパクの餌が給餌されたマウスは、ある程度大腸炎から保護された。Millerは「このブレイクスルー研究は、特定の食事が腸炎に及ぼす影響に関する先例になると言っている」と指摘している。栄養の欠乏、統合的ストレス応答の誘導、およびインフラマソームの阻害間にこのような関連性が生じるのは予想外で、なぜなら、統合的ストレス応答を刺激するその他の多くのストレスは、インフラマソームを含む炎症性シグナル伝達を活性化するものであるからだ。アミノ酸は、栄養の供給および増殖因子のシグナル伝達に反応して細胞増殖を制御するタンパク質複合体であるmTORC1(機構的ラバマイシン標的1)の、重要な活性化因子である。2016年は、mTORC1のための2つのアミノ酸センサー、すなわちアルギニンセンサーとロイシンセンサーが同定された年であった。Perrimonが推薦した2つの研究のうちの1報目は、アルギニン依存性mTORC1の活性化に重要なアルギニンセンサーとして、それまで特性不明のタンパク質を同定したChantranupongら(22)による研究である。同タンパク質は著者らによりCASTOR1(cellular arginine sensor for mTORC1)と新たに命名された(22-24)。アルギニンの非存在下ではCASTOR1はGATOR2タンパク質複合体と結合してmTORC1を阻害する。一方でアルギニンの存在下では、アルギニンがCASTOR1に結合し、GATOR2タンパク質複合体との相互作用を阻害することでmTORC1を活性化する。この研究グループはまた、mTORC1制御に関与するロイシンセンサーとして、細胞質タンパク質SESTRIN2も同定した。CASTOR1と同様、SESTRIN2はそのアミノ酸リガンドの非存在下でGATOR2と相互作用してmTORC1を阻害する(25,26)。このことは、アミノ酸によるmTORC1制御においてGATOR2複合体が重要なハブであることを示唆している。

アミノ酸枯渇によりmTORC1が阻害されれば、オートファジーが誘導される。細胞ストレスに対するこのような異化反応は、細胞が栄養欠乏に耐える一助となる分子構成要素を提供する。グルコース飢餓も同様にオートファジーを誘導する。二糖類であるトレハロースは、mTORC1シグナル伝達とは独立した機序を介して細胞のオートファジーを刺激することができ、この特性は、病的なタンパク質凝集を伴う種々の神経変性疾患の緩和に有効である可能性がある(27,28)。本誌編集者が推薦したDeBoschら(27)による興味深い研究からは、トレハロース依存性オートファジーに関する機序が提示されている。この研究は、トレハロースがAMPK(アデノシン5'-リン酸活性化プロテインキナーゼ)依存性の肝細胞オートファジーを促進し、SLC2Aファミリー輸送体によるグルコースの取込みを阻害することで、脂肪肝を軽減できることを示した。

脂肪酸の β 酸化、トリカルボン酸回路および酸化的リン酸化を含む多くの重要な代謝プロセスがミトコンドリア内で生じている(図4)。種々の条件下で(すなわちシグナル伝達に関連する攪乱に反応した)ミトコンドリア代謝を定量分析することは、ミトコンドリアの大きさが細胞容積全体に比べて小さいこと、また細胞から未変性のミトコンドリアを迅速かつ特異的に単離することは困難であったため、従来は難しいものであった。Perrimonが推薦した2報目の研究はChenらによるもので[(29)、関連解説(30)を参照]、迅速かつ特異的なミトコンドリア単離のためのエピトープ標識と、予測される全ミトコンドリア代謝物のライブラリーを用いた質量分析を組み合わせて、ミトコンドリアマトリックス代謝物を種々の条件下で定量した。Perrimonはこう指摘している。「この方法は、疾患状態を含む様々な状態におけるミトコンドリアの比較に役立つであろう」。さらには細胞のシグナル伝達に影響する、または影響される、その他の細胞小器官の研究にも、この一般的なアプローチは応用できるはずである。

昨年版の本誌「ブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー」では、寄生植物ストライガ(*Striga*)が、生長と発育に関わる植物ホルモンクラスである微量のストリゴラクトンを検出することで宿主の位置を確認することを可能にする受容体の、進

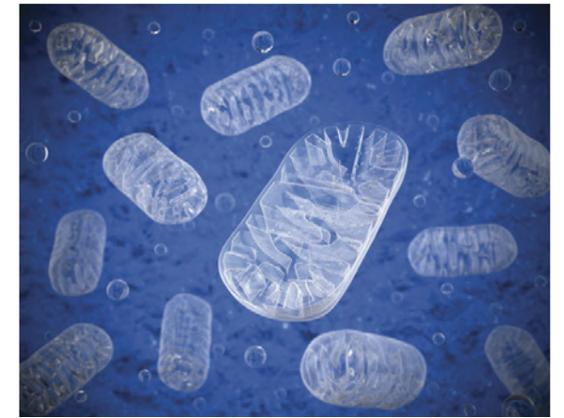


図4 分離したミトコンドリアからその代謝の秘密が明らかに

化、同定および構造を研究した一連の論文を特集した。ストリゴラクトンとその受容体は、本年の最後のシグナル伝達ブレイクスルー研究として再登場し、ストリゴラクトンとストリゴラクトン受容体であるDWARF 14(D14)の相互作用に関する非常に珍しい機序を明らかにした1対の研究を、本誌編集者が推薦している(31-33)。大半のホルモンは対応する受容体と可逆的に非共有結合するが、シロイヌナズナ(*Arabidopsis*)の受容体を検討したYaoら(31)とエンドウマメの受容体を検討したde Saint Germainら(32)は、D14がストリゴラクトンを加水分解してD14自身のリガンドを作成することを見出した。この活性リガンドは次にD14受容体に共有結合し、下流のストリゴラクトンのシグナル伝達を可能にする大きなコンフォメーション変化を引き起こす。

今回、候補研究を挙げていただき、シグナル伝達の「ブレイクスルー・オブ・ザ・イヤー」の作成を可能にしてくださいすべての科学者の皆様に感謝申し上げます。また、論文の編集を助けていただいたT. DietzelおよびA. Mushegianにも感謝申し上げます。

Related Resources

Editorial Guide

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

Editors' Choice

- J. F. Foley, Serine ubiquitylation. *Sci. Signal.* 9, ec303 (2016). [Abstract]

• A. M. VanHook, A lock that cuts its own key. *Sci. Signal.* **9**, ec196 (2016). [Abstract]

• W. Wong, An arginine sensor for mTORC1. *Sci. Signal.* **9**, ec79 (2016). [Abstract]

Perspective

• J. Chen, X. D. Zhang, C. Proud, Dissecting the signaling pathways that mediate cancer in PTEN and LKB1 doubleknockout mice. *Sci. Signal.* **8**, pe1 (2015). [Abstract]

Podcast

• H. Eldar-Finkelman, A. M. VanHook, *Science Signaling* Podcast for 15 November 2016: A new type of kinase inhibitor. *Sci. Signal.* **9**, pc22 (2016). [Abstract]

Research Articles

• Z. Cheng, B. Taylor, D. R. Ourthiague, A. Hoffmann, Distinct single-cell signaling characteristics are conferred by the MyD88 and TRIF pathways during TLR4 activation. *Sci. Signal.* **8**, ra69 (2015). [Abstract]

• J. Dobbins, E. Gagnon, J. Godec, J. Pyrdol, D. A. A. Vignali, A. H. Sharpe, K. W. Wucherpfennig, Binding of the cytoplasmic domain of CD28 to the plasma membrane inhibits Lck recruitment and signaling *Sci. Signal.* **9**, ra75 (2016). [Abstract]

• M. L. Halls, H. R. Yeatman, C. J. Nowell, G. L. Thompson, A. B. Gondin, S. Civciristov, N. W. Bunnett, N. A. Lambert, D. P. Poole, M. Canals, Plasma membrane localization of the m-opioid receptor controls spatiotemporal signaling. *Sci. Signal.* **9**, ra16 (2016). [Abstract]

• R. L. Kortum, L. Balagopalan, C. P. Alexander, J. Garcia, J. M. Pinski, R. K. Merrill, P. H. Nguyen, W. Li, I. Agarwal, I. O. Akpan, C. L. Sommers, L. E. Samelson, The ability of Sos1 to oligomerize the adaptor protein LAT is separable from its guanine nucleotide exchange activity in vivo. *Sci. Signal.* **6**, ra99 (2013). [Abstract]

• P. C. Maity, A. Blount, H. Jumaa, O. Ronneberger, B. F. Lillemeier, M. Reth, B cell antigen receptors of the IgM and IgD classes are clustered in different protein islands that are altered during B cell activation. *Sci. Signal.* **8**, ra93 (2015). [Abstract]

• S. V. Pagoon, S.-P. Cordoba, D. M. Owen, S. M. Rothery, A. Oszmiana, D. M. Davis, Superresolution microscopy reveals nanometer-scale reorganization of inhibitory natural killer cell receptors upon activation of NKG2D. *Sci. Signal.* **6**, ra62 (2013). [Abstract]

• N. Patsoukis, J. Brown, V. Petkova, F. Liu, L. Li, V. A. Boussiotis, Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation. *Sci. Signal.* **5**, ra46 (2012). [Abstract]

• M. A. Purbhoo, H. Liu, S. Oddos, D. M. Owen, M. A. A. Neil, S. V. Pagoon, P. M. W. French, C. E. Rudd, D. M. Davis, Dynamics of subsynaptic vesicles and surface microclusters at the immunological synapse. *Sci. Signal.* **3**, ra36 (2010). [Abstract]

• R. A. Saxton, K. E. Knockenhauer, T. U. Schwartz, D. M. Sabatini, The apo-structure of the leucine sensor Sestrin2 is still elusive. *Sci. Signal.* **9**, ra92 (2016). [Abstract]

• Q. Xue, Y. Lu, M. R. Eisele, E. S. Sulistijo, N. Khan, R. Fan, K. Miller-Jensen, Analysis of single-cell cytokine secretion reveals a

role for paracrine signaling in coordinating macrophage responses to TLR4 stimulation. *Sci. Signal.* **8**, ra59 (2015). [Abstract]

Reviews

• J. H. Lee, U.-S. Cho, M. Karin, Sestrin regulation of TORC1: Is Sestrin a leucine sensor? *Sci. Signal.* **9**, re5 (2016). [Abstract]

REFERENCES AND NOTES

1. A. Manglik, H. Lin, D. K. Aryal, J. D. McCorvy, D. Dengler, G. Corder, A. Levit, R. C. Kling, V. Bernat, H. Hübner, X.-P. Huang, M. F. Sassano, P. M. Giguère, S. Löber, D. Duan, G. Scherrer, B. K. Kobilka, P. Gmeiner, B. L. Roth, B. K. Shoichet, Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects. *Nature* **537**, 185-190 (2016).
2. B. L. Kieffer, Drug discovery: Designing the ideal opioid. *Nature* **537**, 170-171 (2016).
3. A. Küffer, A. K. K. Lakkaraju, A. Mogha, S. C. Petersen, K. Airich, C. Doucerain, R. Marpakwar, P. Bakirci, A. Senatore, A. Monnard, C. Schiavi, M. Nuvolone, B. Grosshans, S. Hornemann, F. Bassilana, K. R. Monk, A. Aguzzi, The prion protein is an agonistic ligand of the G protein-coupled receptor Adgrg6. *Nature* **536**, 464-468 (2016).
4. A. Licht-Murava, R. Paz, L. Vaks, L. Avrahami, B. Plotkin, M. Eisenstein, H. Eldar-Finkelman, A unique type of GSK-3 inhibitor brings new opportunities to the clinic. *Sci. Signal.* **9**, ra110 (2016).
5. J. L. Sanderson, J. A. Gorski, M. L. Dell'Acqua, NMDA receptor-dependent ltd requires transient synaptic incorporation of Ca²⁺-permeable AMPARs mediated by AKAP150-anchored PKA and calcineurin. *Neuron* **89**, 1000-1015 (2016).
6. J. W. Hell, How Ca²⁺-permeable AMPA receptors, the kinase PKA, and the phosphatase PP2B are intertwined in synaptic LTP and LTD. *Sci. Signal.* **9**, pe2 (2016).
7. X. Su, J. A. Ditlev, E. Hui, W. Xing, S. Banjade, J. Okrut, D. S. King, J. Taunton, M. K. Rosen, R. D. Vale, Phase separation of signaling molecules promotes T cell receptor and signal transduction. *Science* **352**, 595-599 (2016).
8. M. L. Dustin, J. Miller, Liquidity in immune cell signaling. *Science* **352**, 516-517 (2016).
9. A. Nag, M. I. Monine, J. R. Faeder, B. Goldstein, Aggregation of membrane proteins by cytosolic cross-linkers: Theory and simulation of the LAT-Grb2-SOS1 system. *Biophys. J.* **96**, 2604-2623 (2009).
10. W. Y. C. Huang, Q. Yan, W.-C. Lin, J. K. Chung, S. D. Hansen, S. M. Christensen, H.-L. Tu, J. Kuriyan, J. T. Groves, Phosphotyrosine-mediated LAT assembly on membranes drives kinetic bifurcation in recruitment dynamics of the Ras activator SOS. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **113**, 8218-8223 (2016).
11. Y. Liang, M. Cucchetti, R. Roncagalli, T. Yokosuka, A. Malzac, E. Bertasio, J. Imbert, I. J. Nijman, M. Suchanek, T. Saito, C. Wülfing, B. Malissen,

M. Malissen, The lymphoid lineage-specific actin uncapping protein Rltpr is essential for costimulation via CD28 and the development of regulatory T cells. *Nat. Immunol.* **14**, 858-866 (2013).

12. Y. Wang, C. S. Ma, Y. Ling, A. Bousfiha, Y. Camcioglu, S. Jacquot, K. Payne, E. Crestani, R. Roncagalli, A. Belkadi, G. Kerner, L. Lorenzo, C. Deswarte, M. Chrabieh, E. Patin, Q. B. Vincent, I. Müller-Fleckenstein, B. Fleckenstein, F. Ailal, L. Quintana-Murci, S. Fraitag, M.-A. Alyanikian, M. Leruez-Ville, C. Picard, A. Puel, J. Bustamante, S. Boisson-Dupuis, M. Malissen, B. Malissen, L. Abel, A. Hovnanian, L. D. Notarangelo, E. Jouanguy, S. G. Tangye, V. Béziat, J.-L. Casanova, Dual T cell- and B cell-intrinsic deficiency in humans with biallelic RLTPR mutations. *J. Exp. Med.* **213**, 2413-2435 (2016).
13. R. Roncagalli, M. Cucchetti, N. Jarmuzynski, C. Grégoire, E. Bergot, S. Audebert, E. Baudalet, M. Goncalves Menoita, A. Joachim, S. Durand, M. Suchanek, F. Fiore, L. Zhang, Y. Liang, L. Camoin, M. Malissen, B. Malissen, The scaffolding function of the RLTPR protein explains its essential role for CD28 costimulation in mouse and human cells. *J. Exp. Med.* **213**, 2437-2457 (2016).
14. S.-O. Lim, C.-W. Li, W. Xia, J.-H. Cha, L.-C. Chan, Y. Wu, S.-S. Chang, W.-C. Lin, J.-M. Hsu, Y.-H. Hsu, T. Kim, W.-C. Chang, J. L. Hsu, H. Yamaguchi, Q. Ding, Y. Wang, Y. Yang, C.-H. Chen, A. A. Sahin, D. Yu, G. N. Hortobagyi, M.-C. Hung, Deubiquitination and stabilization of PD-L1 by CSN5. *Cancer Cell* **17**, 925-939 (2016).
15. C.-W. Li, S.-O. Lim, W. Xia, H.-H. Lee, L.-C. Chan, C.-W. Kuo, K.-H. Khoo, S.-S. Chang, J.-H. Cha, T. Kim, J. L. Hsu, Y. Wu, J.-M. Hsu, H. Yamaguchi, Q. Ding, Y. Wang, J. Yao, C.-C. Lee, H.-J. Wu, A. A. Sahin, J. P. Allison, D. Yu, G. N. Hortobagyi, M.-C. Hung, Glycosylation and stabilization of programmed death ligand-1 suppresses T-cell activity. *Nat. Commun.* **7**, 12632 (2016).
16. J. Qiu, M. J. Sheedlo, K. Yu, Y. Tan, E. S. Nakayasu, C. Das, X. Liu, Z.-Q. Luo, Ubiquitination independent of E1 and E2 enzymes by bacterial effectors. *Nature* **533**, 120-124 (2016).
17. S. Bhogaraju, I. Dikic, Cell biology: Ubiquitination without E1 and E2 enzymes. *Nature* **533**, 43-44 (2016).
18. M. A. Nakasone, D. T. Huang, Ubiquitination accomplished: E1 and E2 enzymes were not necessary. *Mol. Cell* **62**, 807 (2016).
19. S. Bhogaraju, S. Kalayil, Y. Liu, F. Bonn, T. Colby, I. Matic, I. Dikic, Phosphorylation of ubiquitin promotes serine ubiquitination and impairs conventional ubiquitination. *Cell* **167**, 1636-1649.e13 (2016).
20. A. M. Piccinini, L. Zuliani-Alvarez, J. M. P. Lim, K. S. Midwood, Distinct microenvironmental cues stimulate divergent TLR4-mediated signaling pathways in macrophages. *Sci. Signal.* **9**, ra86 (2016).

21. R. Ravindran, J. Loebbermann, H. I. Nakaya, N. Khan, H. Ma, L. Gama, D. K. Machiah, B. Lawson, P. Hakimpour, Y.-c. Wang, S. Li, P. Sharma, R. J. Kaufman, J. Martinez, B. Pulendran, The amino acid sensor GCN2 controls gut inflammation by inhibiting inflammasome activation. *Nature* **531**, 523-527 (2016).

22. L. Chantranupong, S. M. Scaria, R. A. Saxton, M. P. Gygi, K. Shen, G. A. Wyant, T. Wang, J. Wade Harper, S. P. Gygi, D. M. Sabatini, The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway. *Cell* **165**, 153-164 (2016).

23. J. E. Hughes-Hallet, B. D. Manning, CASTORING new light on amino acid sensing. *Cell* **165**, 15-17 (2016)

24. R. A. Saxton, L. Chantranupong, K. E. Knockenhauer, T. U. Schwartz, D. M. Sabatini, Mechanism of arginine sensing by CASTOR1 upstream of mTORC1. *Nature* **536**, 229-233 (2016).

25. R. L. Wolfson, L. Chantranupong, R. A. Saxton, K. Shen, S. M. Scaria, J. R. Cantor, D. M. Sabatini, Sestrin2 is a leucine sensor for the mTORC1 pathway. *Science* **351**, 43-48 (2016)

26. R. A. Saxton, K. E. Knockenhauer, R. L. Wolfson, L. Chantranupong, M. E. Pacold, T. Wang, T. U. Schwartz, D. M. Sabatini, Structural basis for leucine sensing by the Sestrin2-mTORC1 pathway. *Science* **351**, 53-58 (2016).

27. B. J. DeBosch, M. R. Heitmeier, A. L. Mayer, C. B. Higgins, J. R. Crowley, T. E. Kraft, M. Chi, E. P. Newberry, Z. Chen, B. N. Finck, N. O. Davidson, K. E. Yarasheski, P. W. Hruz, K. H. Moley, Trehalose inhibits solute carrier 2A (SLC2A) proteins to induce autophagy and prevent hepatic steatosis. *Sci. Signal.* **9**, ra21 (2016).

28. P. Mardones, D. C. Rubinsztein, C. Hetz, Mystery solved: Trehalose kickstarts autophagy by blocking glucose transport. *Sci. Signal.* **9**, fs2 (2016).

29. W. W. Chen, E. Freinkman, T. Wang, K. Birsoy, D. M. Sabatini, Absolute quantification of matrix metabolites reveals the dynamics of mitochondrial metabolism. *Cell* **166**, 1324-1337.e11 (2016).

30. J. G. Van Vranken, J. Rutter, The whole (cell) is less than the sum of its parts. *Cell* **166**, 1078-1079 (2016).

31. R. Yao, Z. Ming, L. Yan, S. Li, F. Wang, S. Ma, C. Yu, M. Yang, L. Chen, L. Chen, Y. Li, C. Yan, D. Miao, Z. Sun, J. Yan, Y. Sun, L. Wang, J. Chu, S. Fan, W. He, H. Deng, F. Nan, J. Li, Z. Rao, Z. Lou, D. Xie, DWARF14 is a non-canonical hormone receptor for strigolactone. *Nature* **536**, 469-473 (2016).

32. A. de Saint Germain, G. Clavé, M.-A. Badet-Denisot, J.-P. Pillot, D. Cornu, J.-P. Le Caer, M. Burger, F. Pelissier, P. Retailleau, C. Turnbull, S. Bonhomme, J. Chory, C. Rameau, F.-D. Boyer, An histidine covalent receptor and butenolide complex mediates strigolactone perception. *Nat. Chem. Biol.* **12**, 798-794 (2016).

33. K. C. Snowden, B. J. Janssen, Structural biology: Signal locked in. *Nature* **536**, 402-404 (2016).

プリン作動性P2Y₆受容体はアンジオテンシンAT1受容体とヘテロ二量体を形成してアンジオテンシンII誘発性高血圧を促進する

Purinergic P2Y₆ receptors heterodimerize with angiotensin AT1 receptors to promote angiotensin II-induced hypertension

Caroline Sunggip^{1,2} 齊藤 秀俊^{3,4} 島内 司¹ 富田(沼賀)拓郎^{1,5} 平野 勝也⁶ 井手 友美⁷ Jean-Marie Boeynaems⁸ 黒瀬 等⁹ 津田 誠⁴ Bernard Robaye⁸ 井上 和秀³

¹自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター(生理学研究所) 心循環シグナル研究部門

²Department of Biomedical Science and Therapeutic, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sabah

³九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野

⁴九州大学大学院 薬学研究院 ライフイノベーション分野

⁵総合研究大学院大学 生理科学専攻

⁶香川大学医学部 自律機能生理学

⁷九州大学大学院 医学研究院 循環器内科学

⁸Institute of Interdisciplinary Research, School of Medicine, Université Libre de Bruxelles

⁹九州大学大学院 薬学研究院 薬効安全性学分野



左から西村 明幸、西田 基宏

西村 明幸 Akiyuki Nishimura

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター(生理学研究所)
心循環シグナル研究部門 特任助教
総合研究大学院大学 生理科学専攻

西田 基宏 Motohiro Nishida

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター(生理学研究所)
心循環シグナル研究部門 教授
総合研究大学院大学 生理科学専攻
九州大学大学院 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室 教授
科学技術振興機構 さきがけ

Contact 西田 基宏 E-mail : nishida@nips.ac.jp 西村 明幸 E-mail : aki@nips.ac.jp
所在地 : 444-8787 愛知県岡崎市明大寺町東山5-1
URL : http://www.nips.ac.jp/circulation/

Abstract

アンジオテンシン(Ang)1型受容体(AT1R)は、動脈壁の機能的および構造的統合性を促進し、血管恒常性の維持に寄与する一方で、高血圧の誘導にも関与している。我々は、AT1Rを介したAng IIシグナルが、生理的応答から病的応答に変換される仕組みについて検討を行い、炎症誘発性のGタンパク質(ヘテロ三量体Gαニスクレオチド結合タンパク質)共役型受容体(GPCR)であるプリン作動性P2Y₆受容体(P2Y₆R)が、Ang II誘発性高血圧を促進することをマウスモデルで見出した。マウスにおいて、P2Y₆Rを欠失させると、Ang II誘発性の血圧上昇、血管リモデリング、酸化ストレス、内皮機能障害が軽減された。AT1RとP2Y₆Rは安定したヘテロ二量体を形成し、このヘテロ二量体は、Gタンパク質依存性の血管肥大応答を増強する一方で、β-アレスチン依存性のAT1Rインターナリゼーションを抑制した。P2Y₆RアンタゴニストMRS2578を用いてAT1R-P2Y₆Rヘテロ二量体化を薬理的に阻害すると、マウスモデルにおけるAng II誘発性高血圧が抑制された。さらに、血管平滑筋細胞において、P2Y₆R発現量は加齢とともに増加した。P2Y₆Rの発現量が増加することによって、血管平滑筋細胞におけるAT1Rを介したシグナルが、β-アレスチン依存性の増殖応答から、Gタンパク質依存性の肥大応答に変化した。これらの結果は、加齢に伴うAT1R-P2Y₆Rヘテロ二量体形成の増加が、Ang II誘発性の高血圧リスクを高めることを強く示唆している。

Figure and Note

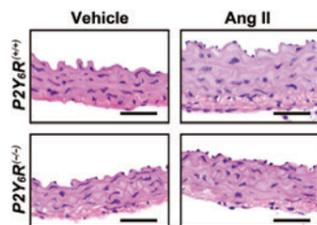


図1: Ang II慢性投与による血管リモデリング

Ang IIを4週間慢性投与した野生型およびP2Y₆R欠損マウスから単離した下行大動脈のヘマトキシリン・エオジン染色像。野生型マウスではAng IIによる血管中膜の肥厚が見られるが、P2Y₆R欠損マウスでは抑制されている。

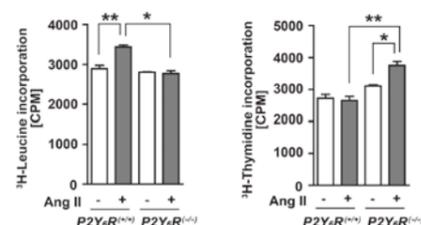


図2: P2Y₆RによるAng II細胞応答性のスイッチング

野生型およびP2Y₆R欠損マウスから単離した血管平滑筋細胞でのAng II刺激による肥大応答と増殖応答を検討した。肥大応答は³H-Leucine取り込み、増殖応答は³H-Thymidine取り込みで評価した。P2Y₆Rが欠失することでAng IIの細胞応答が肥大から増殖応答に変化している。

加齢依存的な受容体のヘテロ二量体化が高血圧リスクを高める

心臓や血管などの組織は自身を取り巻く環境が変化した時、その環境に適応すべく自身の構造や形態を変化させることが知られており、「リモデリング」と呼ばれています。リモデリングは環境変化に対する適応機構として働く一方で、不可逆的な形態変化が進みすぎると組織の機能はやがて破綻し、様々な疾患の原因ともなります。レニン-アンジオテンシン系により産生されるアンジオテンシンII(Ang II)は血圧上昇作用を持つ生理活性ペプチドであり、アンジオテンシンII受容体(AT1R)に作用することで血管を収縮させます。また、Ang IIは血管中膜を構成する血管平滑筋細胞を肥大させることで中膜肥厚といった血管リモデリングを誘導します。血管リモデリングが進行すると血管抵抗性が増大し、慢性的な血圧上昇(高血圧)を引き起こします。血管リモデリングの要因となる肥大応答は、成体由来の血管平滑筋細胞では起こりますが、胎児由来の細胞では肥大応答の代わりに増殖応答が誘導されることが知られています。しかしながら、発生に伴ってAng IIに対する細胞応答性が増殖から肥大に変化する仕組みについてはこれまでわかっていませんでした。

私たちはこれまで細胞外ヌクレオチドをリガンドとするプリン作動性Gタンパク質共役型受容体(GPCR)の1つであるP2Y₆Rが、心臓リモデリングに関与することを明らかにしてきました¹⁾。そこで今回Ang IIによる血管リモデリングにP2Y₆Rが関与するののかについて検討を行い、P2Y₆R欠損マウスではAng II慢性投与による血管リモデリングおよび高血圧が抑制されることを見出しました。また、P2Y₆RはAT1Rとヘテロ二量体を形成することで、Ang II下流のシグナル及び細胞応答を変化させることがわかりました。GPCRの下流ではGタンパク質経路とβアレスチン経路の2つのシグナル経路に分岐していきます。AT1R単量体ではβアレスチン経路が優位に活性化されることで増殖応答が誘導されるのに対して、AT1R-P2Y₆R複合体ではGタンパク質経路にスイッチすることで肥大応答が誘導されました。AT1R-P2Y₆R複合体は発生に伴い増加することから、AT1R-P2Y₆R複合体によるシグナルスイッチングが胎児由来と成体由来の血管平滑筋細胞でのAng II細胞応答性の違いを決めていることがわかりました。

本研究から、AT1R-P2Y₆R複合体の増加がAng IIによる血管リモデリングおよび高血圧リスクを高めることが明らかになりました。現在の日本において、高齢者の半数以上が高血圧にかかっていると考えられており、大きな社会問題になっています。P2Y₆Rの発現量は老齢マウス由来の血管でさらに高くなることがわかっており、加齢に伴う高血圧リスクの一端にP2Y₆Rが関与しているかについて興味を持たれます。

1) M. Nishida, Y. Sato, A. Uemura, Y. Narita, H. Tozaki-Saitoh, M. Nakaya, T. Ide, K. Suzuki, K. Inoue, T. Nagao, H. Kurose, P2Y₆ receptor-Gα_{12/13} signalling in cardiomyocytes triggers pressure overload-induced cardiac fibrosis. *EMBO J.* 27, 3104-3115 (2008).

岡崎統合バイオサイエンスセンター(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反応し、心循環恒常性を制御する機構を、シグナル伝達の視点から読み解こうとしています。具体的には、遺伝子改変マウスを用いて、病態モデルや運動・食事などの環境曝露とのかけ合わせから得られる個体応答を、細胞・分子レベルで証明し、健康長寿につながる創薬戦略を構築するための基盤研究を進めています。私たちの研究に興味を持たれた方は是非ご連絡ください。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。



MEK/ERK モジュールを介する状況特異的なフローが ERK 単一および二重リン酸化の細胞およびリガンド特異的なパターンを生み出す

Context-specific flow through the MEK/ERK module produces cell- and ligand-specific patterns of ERK single and double phosphorylation

Lorenza A. D'Alessandro¹ Sofia Depner¹ Bettina Hahn² Bernhard A. Kramer¹ Philippe Lucarelli¹ Artyom Vlasov¹ Markus Stepath¹ Martin E. Böhm¹ Daniela Deharde³ Georg Damm³ Daniel Seehofer³ Wolf D. Lehmann^{1,2} Ursula Klingmüller^{1,4} Marcel Schilling¹

¹ Division Systems Biology of Signal Transduction, German Cancer Research Center
² Molecular Structure Analysis, German Cancer Research Center
³ Department of General, Visceral and Transplantation Surgery, Campus Virchow Clinic, Charité - University Medicine Berlin
⁴ Translational Lung Research Center, Member of the German Center for Lung Research (DZL)



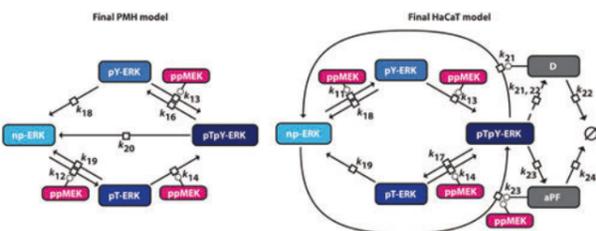
岩本 直 *Nao Iwamoto*
Postdoctoral Researcher, Division Systems Biology of Signal Transduction, German Cancer Research Center (DKFZ)
(現 Investigator Bioinformatics, Cellzome, a GSK company)

Contact
E-mail : iwamoto.nao@alumni.dkfz.de
所在地 : Cellzome, a GSK company, Meyerhofstr.1, 69117 Heidelberg, Germany
URL : <http://www.dkfz.de/en/systembiologie/>
(現 <http://www.gsk.com/en-gb/research/randd-locations/europe/cellzome/>)

Abstract

マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) 経路のように、同じ経路が、刺激または細胞種に応じて異なる細胞応答を生み出すことがある。我々は、肝細胞増殖因子 (HGF) またはインターロイキン-6 (IL6) に曝露した初代培養肝細胞と形質転換ケラチノサイト細胞株 HaCaT A5 において、MAPK キナーゼ MEK とその標的である細胞外シグナル制御キナーゼ 1 および 2 (ERK1/2) のリン酸化のダイナミクスを研究した。質量分析を動的モデリングと併用することにより、両細胞種における ERK の可逆的トレオニンおよびチロシンリン酸化のネットワーク構造を解明した。リン酸化・脱リン酸化反応の違いに加えて、HaCaT A5 ネットワークモデルには 2 つのフィードバック機構が必要であり、これらの機構には、実験データから示唆されたところによると、二重特異性ホスファターゼ DUSP6 と足場タンパク質パキシリンの誘導が関与していた。我々は、二重リン酸化された活性型の ERK1/2 の集積と、一リン酸化型の ERK1/2 における変化のダイナミクスを測定し、モデルを作成した。ERK1/2 のリン酸化型の分布における変化のダイナミクスのデータに基づき、数学的モデルを作成した。その 2 つのモデルをシミュレーションすると、MEK 活性量の差が状況特異的な応答を引き起こす事が示唆された。さらに、初代培養肝細胞は二重リン酸化 ERK1/2 の形成を促進し、HaCaT A5 細胞はトレオニンリン酸化型と二重リン酸化型の両方を生成することが示唆された。これらのリン酸化分布の違いによって、ERK 応答の閾値、感度、飽和に説明がついた。差次的な ERK リン酸化プロファイルの結果を、さらに 5 つの培養細胞系と、対応した肝腫瘍と正常組織に拡張したところ、リン酸化 ERK の様々な型の状況特異的なパターンが明らかになった。

Figure and Note



図：データ駆動型数学的モデリングにより解析された ERK リン酸化のネットワーク構造
実験データに基づき作成されたマウス肝細胞 (左) とヒトケラチノサイト (右) の数学的モデル。微分方程式を用いた動的モデリングにより、両細胞種における可逆的リン酸化のネットワークの違いが解明された。

システム生物学の技術を駆使してシグナル伝達を解明する

システム生物学は、細胞機能や生命現象を一つのシステムとして捉え、数学・情報工学の考え方や解析手法を生物学・分子生物学に導入し、そのシステムの特性を解明することを目的とする、生物学の一分野です。近年の実験手法の発展により、莫大な量のデータが得られるようになり、それに伴いコンピュータ・シミュレーションの必要性も自然と高まっています。システム生物学の目標は、実験的方法とシミュレーションの両方を用いて細胞機能を理解することです。

我々はその中でも細胞内の情報伝達に注目し、質量分析法やウェスタンブロット法を用いたタンパク質の検出方法と、微分方程式を用いた数理解析手法の両方を利用し、シグナル伝達経路の解明を目的としています。

シグナル伝達経路は様々な細胞機能を制御し、特に ERK 経路は刺激や細胞種に応じて異なる細胞応答を呼び起こすことが出来ます。そのため今回我々はマウスの肝細胞とヒトケラチノサイトという二つの細胞種に、同じ ERK 経路をシグナル伝達に要する二つの成長因子を与え、その細胞応答を研究しました。

我々は両細胞種における刺激後の ERK の可逆的トレオニン及びチロシンリン酸化のデータを 2 時間に及び測定し、そのデータを微分方程式を用いた動的モデリングで解析しました。それにより、同じ ERK 経路でも、細胞種により異なるリン酸化・脱リン酸化のルートが利用される事が判明しました。さらに、ヒトケラチノサイトの ERK ネットワークには、二つのフィードバック機構が必要であることが示唆されました。そのため、我々は数学的モデルを用いて仮説を立て、更なる実験を経て、その二つのフィードバックが二重特異性ホスファターゼ DUSP6 と足場タンパク質パキシリンであることが認められました。

本研究ではさらに、ERK をリン酸化の標的とする MAP キナーゼ MEK の活性量の差が状況特異的な応答を呼び起こすことが解明されました。特に、マウスの肝細胞では二重リン酸化型 ERK の形成が促され、ヒトケラチノサイトではそれに加えトレオニンリン酸化型 ERK の生成が示唆されました。この差次的なリン酸化型 ERK の分布プロファイルを、更なる 5 つの細胞種と、対応したヒト肝腫瘍と正常組織に拡張したところ、リン酸化 ERK の様々な型の状況特異的なパターンが明らかになりました。それにより、正常組織は二重リン酸化型 ERK のみを生成し、逆に一重リン酸化型 ERK の蓄積が悪性組織のエビデンスであり得ると仮定されました。今後は、更なる実験成果を重ね、一重リン酸化型 ERK のがん組織における必要性の理解を深めていくことが重要であると考えます。

ドイツ・ハイデルベルグで研究に励む

ドイツ最古、1386 年設立の大学を誇るハイデルベルグはドイツ南西、バーデン・ヴュルテンベルク州の北西部にあり、ネッカー川が流れる人口約 15 万人の街は多くの学生と観光客を惹きつけます。その中でも、1964 年設立のドイツがん研究センターは最先端の研究機関で、2008 年のハラルド・ツア・ハウゼン、2014 年のシュテファン・ヘルと、近年で二人のノーベル賞受賞者を輩出しています。この研究施設はたくさんの若い研究者を育て、500 人も大学生、大学院生が日々研究に励んでいます。もし機会があれば、是非ともこの街を訪れ、がん研究センターに足を運んでみてはいかがでしょうか。



細胞機能の全合成を目指して： 合成生物学によって細胞ダイナミクスを再構成する

Toward total synthesis of cell function: Reconstituting cell dynamics with synthetic biology

Allen K. Kim^{1,2,3} Robert DeRose^{1,2} 上野 匡⁴ Benjamin Lin^{3,5,6} 小松 徹^{4,7}

¹ Department of Cell Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University
² Center for Cell Dynamics, School of Medicine, Johns Hopkins University
³ Department of Biomedical Engineering, School of Medicine, Johns Hopkins University
⁴ 東京大学大学院 薬学系研究科
⁵ Systems Biology Institute, Yale University
⁶ Department of Biomedical Engineering, Yale University
⁷ 科学技術振興機構 さきがけ



左から井上 尊生、中村 秀樹

井上 尊生 *Takanari Inoue*
Associate Professor, Department of Cell Biology, School of Medicine,
Johns Hopkins University
Center for Cell Dynamics, School of Medicine, Johns Hopkins University
科学技術振興機構 さきがけ

中村 秀樹 *Hideki Nakamura*
Postdoctoral Fellow, Department of Cell Biology, School of Medicine,
Johns Hopkins University
Center for Cell Dynamics, School of Medicine, Johns Hopkins University

Contact

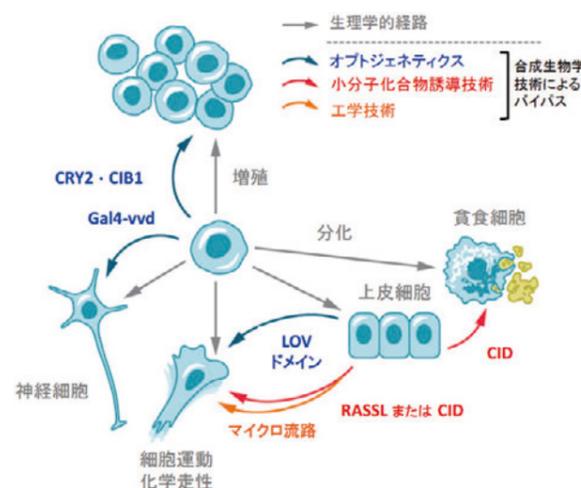
井上 尊生 E-mail : jctinoue@jhmi.edu
所在地 : 855 N. Wolfe Street, Baltimore, MD 21205, USA
URL : http://pages.jh.edu/~inouelab/home.html

中村 秀樹 E-mail : hnakamu2@jhmi.edu

Abstract

細胞分化や貪食などの生物学的現象は、多細胞生物において個々の細胞が重要な生理的役割を果たすことを可能にする基本過程である。合成生物学の分野において、これらの挙動の研究は、関連するシグナル伝達経路の主要成分をリアルタイムで操作し測定するための、様々な分子ツールの使用に依存している。このReviewでは、オプトジェネティクスや小分子化合物誘導による二量体化などの技術を用いて細胞のダイナミクスを再構成する、いわばボトムアップ的手法ともいべき一群の合成生物学ツールに注目する。これらの手法は、シグナル伝達ネットワーク内の因果関係を明らかにするだけでなく、特定の細胞機能に必要な最小限のシグナル伝達成分を同定するためにも極めて重要である。本稿では、細胞の増殖と分化におけるタンパク質活性の時間的な制御や、貪食の再構成、走化性の再構成、アクチン動態の制御など、幅広い細胞および分子現象に、これらの手法を用いた研究について論じる。最後に、合成生物学が医学分野に貢献する可能性について述べる。

Figure and Note



図：合成生物学ツールによる細胞機能の再構成
細胞増殖・分化、貪食、化学走性、細胞運動などの細胞機能は、オプトジェネティクス(青字)や小分子化合物誘導型(赤字)の合成生物学ツールによって再構成・制御が達成されている。

光と小分子化合物を用いて 細胞機能を再構成・制御し、理解する

多細胞生物は、多様な細胞が多様な振る舞いを示して各々の役割を果たすことで成り立っています。幹細胞の増殖や分化は、その最も基本的な一例です。分化した細胞はそれぞれ特化した機能を有し、他の細胞や異物を貪食したり、外的刺激への走化性を示したりして役割を遂行します。これらの細胞ダイナミクスは、複雑なシグナル経路によって制御され、複数経路の重複や多くのフィードバックが存在することもしばしばです。このようなシグナル経路の解明は、ノックアウトや過剰発現、薬理学など従来の手法ではしばしば困難を伴います。そこで近年注目を集めているのが、従来の技術に比べて迅速かつ特異的にシグナル経路を制御可能な合成生物学分野のツールです。本稿では、それらのツールのうち、特に光または小分子化合物による刺激を用いてシグナル経路を特異的に制御する技術に焦点を絞り、それらの技術そのものと、細胞ダイナミクス制御への応用事例を概観しました。

本稿で紹介したツールは、光刺激を用いるオプトジェネティクスと、小分子化合物を入力刺激とする技術に分けられます。後者はさらに、小分子化合物を特異的リガンドとして活性化するレセプター(RASSL)と、小分子化合物によりタンパク質の二量体化を誘導する技術(CID)に二分されます。

オプトジェネティクスは、主にタンパク質の二量体化を誘導することにより、MEK-ERKシグナル経路や転写因子bHLHを制御して、細胞増殖シグナルや神経幹細胞の分化に関わる転写因子活性の再構成にそれぞれ成功しています。さらに化学走性など細胞運動制御においてもその有効性が示されました。

RASSLはケモカイン受容体を置換し、小分子化合物刺激をGタンパク質へとバイパスすることを可能にしました。複数のグループがこの技術を応用して化学走性におけるGタンパク質の役割を解明し、化学走性を制御できることを報告しました。

CIDの応用例として、ペプチドを刺激依存的に細胞表面に提示する技術の開発があげられます。この技術とRac1の活性化を組み合わせて、細胞に細胞貪食機能を付与することに成功しました。また、CIDとマイクロ流路を組み合わせ、小分子化合物に対する化学走性を再構成して非運動性の細胞に埋め込むことにも成功しています。さらに脂質の代謝もCIDによる制御が可能であり、イノシトールリン脂質のアクチン重合制御における役割の解明へも応用されました。

これらの事例から、細胞増殖・細胞分化・貪食・化学走性・細胞運動など様々な現象が合成生物学ツールによって再構成され、それぞれの現象のメカニズム解明に寄与している現状がわかります。

本稿であげた細胞ダイナミクス再構成系は、個々の現象のメカニズムを解明する手段として有効ですが、それは合成生物学の描く将来のほんの端緒にすぎないと私たちは考えています。疾患は、すべて何らかの細胞機能が機能不全を起こすことにより生じていると言っても過言ではありません。細胞機能を再構成し、細胞に埋め込むという合成生物学分野の技術が十分に成熟すれば、それらの技術を応用して疾患の原因となっている細胞機能不全を補完するという、革新的な治療技術の開発も夢ではないと大いに期待しています。

制御してわかる細胞、さらに組織・個体へ

細胞の機能を自在に制御・再構築することで細胞機能を理解する「Synthetic cell biology(合成細胞生物学)」が私たちの理念です。本稿で紹介した技術をベースに、異分野の技術も積極的に採用して細胞機能の制御・再構築を達成します。化学走性、一次繊毛やRNA顆粒など細胞レベルの現象のほか、医療・産業への応用も視野に、組織さらに個体レベルの現象に細胞の制御技術を応用する研究を目指します。

写真：研究室メンバーでランチに出かけた際の集合写真。多様な出身地や専門分野のメンバーで構成されています。



遺伝子にコードされたプローブを用いた マウス酸化還元状態の組織検査

Mouse redox histology using genetically encoded probes

Leticia P. Roma¹ Mirko C. Sobotta¹ Adam J. Rose² Mauricio Berriel Diaz^{2,3} Giuseppe Locatelli⁴
Michael O. Breckwoldt^{4,5} Thomas Misgeld^{5,6,7} Martin Kerschensteiner^{4,6} Stephan Herzig^{2,3}
Karin Müller-Decker⁸ Tobias P. Dick¹

¹ Division of Redox Regulation, DKFZ-ZMBH (German Cancer Research Center–Center for Molecular Biology of the University of Heidelberg) Alliance, DKFZ
² Joint Division Molecular Metabolic Control, DKFZ-ZMBH Alliance, DKFZ Heidelberg, Center for Molecular Biology (ZMBH) and University Hospital, University of Heidelberg
³ Institute for Diabetes and Cancer (IDC) and Joint Heidelberg–IDC Translational Diabetes Program, Heidelberg University Hospital, Helmholtz Center Munich
⁴ Institute of Clinical Neuroimmunology, Ludwig-Maximilians-Universität München
⁵ Institute of Neuronal Cell Biology, Technical University of Munich
⁶ Munich Cluster for Systems Neurology (SyNergy)
⁷ German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE)
⁸ Core Facility Tumor Models, DKFZ



藤川 雄太 Yuuta Fujikawa

Postdoctoral Fellow, Division of Redox Regulation, DKFZ-ZMBH (German Cancer Research Center–Center for Molecular Biology of the University of Heidelberg) Alliance, DKFZ
(現 東京薬科大学 生命科学部 分子生命科学科 分子生物学研究室 助教)

Contact E-mail : yfujii@toyaku.ac.jp
所在地 : 192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1

Abstract

動物組織における内因性酸化還元活性種の生体内分布のマッピングは、生物医学的にきわめて興味深い。食事、運動、感染、老化、毒素または薬理的介入をはじめとする数多くの健康関連因子が、酸化還元状態の変化を引き起こすと考えられている。特定の器官、組織、細胞および細胞小器官について酸化還元状態の変化を検出するためには、新たなツールが必要である。我々は遺伝子にコードされた酸化還元バイオセンサーの *in vivo* の酸化還元状態を、組織検査切片内で保存する方法を開発した。この方法を用い組織の「酸化還元マップ」を作成することで、対象のレドックス状態の変化を検出することができた。腫瘍増殖、炎症、胚発生および栄養飢餓における内在的な酸化還元状態の差異や変化を可視化することで、この技術の有用性を実証する。

Figure and Note

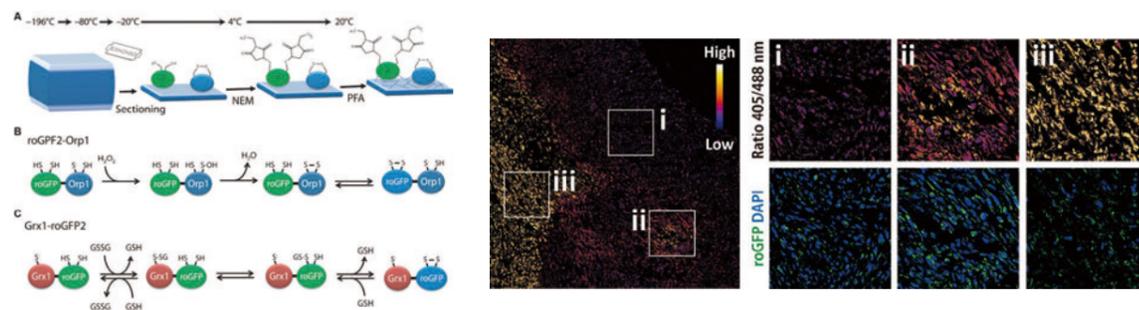


図1：本研究で確立した方法と利用した蛍光センサー

(A) 凍結切片を作製した後、NEM処理することで還元型センサーのチオールをブロックし、PFAによる酸化を抑えることができ、内在的な酸化還元状態を反映させることができる。(B) 過酸化水素センサー-roGFP2-Orp1、(C) 酸化型グルタチオンセンサー-Grx1-roGFP2

図2：がん組織のミトコンドリア roGFP2 の酸化還元状態の分布

共焦点レーザー顕微鏡でのレシオイメージングにより、がん組織での酸化還元状態の分布を一細胞レベルで検出できる。イメージングの結果、還元状態に保たれている部分 (i) ヘテロな分布を示している部分 (ii) 壊死している部分 (iii) で大きな酸化還元状態の違いが見られた。

組織における一細胞レベルの酸化還元状態を可視化する

好気性生物は酸素がないと生きていけません。特にミトコンドリアでは電子伝達系において酸素が水に還元されることによってATPが産生され、生命活動に不可欠な反応が起こっています。このとき、酸素分子が電子伝達を担う分子から電子を直接奪うことによって、活性酸素 (ROS) の一種であるスーパーオキシドが発生し、酵素的に過酸化水素へと還元されます。細胞内で産生されるROSは還元剤であるグルタチオンや各種還元酵素によって取り除かれますが、除去反応を免れたROSは酸化ストレスとして組織障害を引き起こすことが知られています。一方、最近の研究から細胞内の限局された空間で生じるROSはタンパク質システイン残基の酸化反応を介したレドックスシグナリングに重要な分子であることが明らかとなってきています。すなわち、生体内でのROSの検出は、疾病または疾患におけるROSの役割や恒常性維持へ寄与するメカニズムを明らかにする上で非常に重要です。ROS検出法はこれまでいくつも開発されていますが、異なる種類の細胞から構成される組織において、細胞レベルの分解能を持った検出法は開発されていません。そこで本研究では、一細胞レベルの分解能で組織内のレドックス分布を可視化する方法の開発を目指しました。

ドイツがんセンター Redox regulation 部門 (グループリーダー Tobias Dick 博士) では、過酸化水素の細胞内での機能を明らかにするために過酸化水素蛍光センサーなどを開発しています。本研究では、ROSの発生に伴うレドックス (酸化還元) 状態の変化を検出できるGFP (roGFP2) に基づいた蛍光センサーを発現させたがん細胞やトランスジェニックマウスを利用し、組織切片でレドックス状態を可視化する方法を開発しました。すなわち、凍結組織切片を作成する際にroGFP2のチオール基がパラホルムアルデヒドによって酸化されることを防ぐため、チオールと素早く反応してレドックス状態を維持するN-エチルmaleimide (NEM) を処理し、PFA固定を行います。このようなプロトコルにより、内在的なレドックス状態を反映した組織切片でのイメージングを可能とすることに成功しました。センサーを発現させたがん組織や炎症組織に対しこの方法を適用することで、それぞれの組織内部ではミトコンドリアのレドックス状態が一細胞レベルで非常に不均一であることが明らかとなりました。また、マウス胎児の肝臓や絶食時の筋組織においてレドックス状態の酸化シフトが見られたことから、生理的なレドックス変化の検出ができていることを確かめられました。

ROSは様々な疾患において増悪因子となることが知られています。そこで、各種疾患モデルマウスやそれに対する治療薬の投与を行ったモデルマウスに対し、本研究で確立された方法を適用することにより、組織内での薬の効き方や標的とすべき因子などが明らかになると考えられます。

留学先のインタビューを通して感じたこと

Dick 博士の研究室でのポストドクインタビューの1ヶ月後、ポストドクとして受け入れられないとの通知を受けました。頂いたメールには、「英語での会話力が不十分であること、それではどのラボでも同じだから、英語を学ぶことをおすすめする」という旨の内容が書かれていました。一ポストドク候補相手に非常に丁寧な断りのメールを下さったその対応に感激し、「そのような建設的なコメントを下さったあなたとぜひ仕事をしたい」と主張し、結果受け入れてもらうことができました。この出来事を通して、思い通りにいかない場合の対応が人生を決定する大きな要因であることを実感しました。壁にぶつかった時こそ、それは大きなチャンスかもしれません。

写真：筆者が所属していた頃のDKFZ redox regulation 部門のメンバー (左奥、筆者の右がグループリーダーのDick 博士)

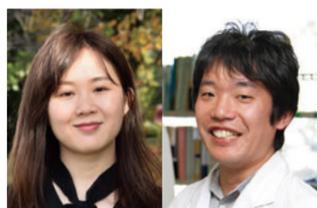


細胞内カチオンチャンネルTRIC-Bを欠損したマウスはコラーゲン産生を損ない、骨石灰化不全を示す

Mice lacking the intracellular cation channel TRIC-B have compromised collagen production and impaired bone mineralization

銭 年超¹ 飯田 綱規¹ 山崎 大樹¹ 野間 成人² 朝霧 成拳² 山本 浩司² 駒崎 伸二³ 佐藤 主税⁴ 青山 典世⁵ 澤口 朗⁵ 柿澤 昌¹ 西 美幸¹ 竹島 浩¹

¹ 京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野 ³ 埼玉医科大学 ⁵ 宮崎大学医学部
² 京都大学大学院医学研究科 ⁴ 産業技術総合研究所



左から、趙成珠、市村 敦彦

趙成珠 Chengzhu Zhao

京都大学IPS細胞研究所 未来生命科学開拓部門 特定研究員

市村 敦彦 Atsuhiko Ichimura

京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野 特定助教
京阪神次世代グローバル研究リーダー育成コンソーシアム(K-CONNEX)



市村 敦彦 E-mail : ichimura.atsuhiko.2r@kyoto-u.ac.jp
所在地 : 606-8501 京都府京都市左京区吉田下阿達町46-29
URL : http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/biochem/
http://k-connex.kyoto-u.ac.jp/ja/researcher/atsuhiko-ichimura

Abstract

三量体細胞内カチオン(TRIC)チャンネルTRIC-AおよびTRIC-Bは、主に小胞体(ER)に局在する一価陽イオン透過性チャンネルであると考えられている。TRICサブタイプは、ERから細胞質へのCa²⁺放出の際Ca²⁺流出により発生する小胞体内腔の膜電位を、Ca²⁺放出と並行したカウンターイオンの膜透過によって中和するカウンターイオンチャンネルとして種々の細胞系でCa²⁺動態に関与していることが示唆されている。近年、複数の遺伝子解析結果から、TRIC-B遺伝子変異に起因する複数の常染色体劣性タイプの骨形成不全症(OI)家系が見出された。しかし、TRIC-B遺伝子変異がOIを引き起こす病態生理学的メカニズムの詳細は未解明であった。そこで、Tric-b欠損マウスを用いて病態形成の分子メカニズムの細胞レベルでの解明を試みた。Tric-b欠損マウスは、肺胞上皮のサーファクタント分泌不良による新生致死性を示すとともに、全身性の骨密度低下も呈する。そこで我々は、骨での表現型の原因となる細胞の異常を探索した。組織学的解析から、Tric-b欠損マウスでは細胞外マトリックスにおけるコラーゲン沈着が減少することが明らかとなった。Tric-b欠損マウス由来の骨形成細胞である骨芽細胞において、ERからのCa²⁺放出が減弱し、小胞体にCa²⁺が過剰貯留することが原因となり、小胞体が膨潤化するとともに未成熟コラーゲンが貯留し、コラーゲンの細胞外への分泌が減少していた。コラーゲン翻訳後修飾を担う小胞体内腔酵素群はCa²⁺感受性であり、Tric-b欠損によるCa²⁺過剰状況下では阻害されるため、小胞体ストレス応答を伴う未修飾コラーゲン貯留が引き起こされるものと推定される。対照的に、Tric-b欠損マウス由来の骨分解細胞である破骨細胞は、野生型マウス由来のものと同様であった。したがって、TRIC-Bの機能は、骨石灰化に必要な骨芽細胞によるコラーゲンの産生および放出を維持するのに不可欠であると考えられる。

Figure and Note

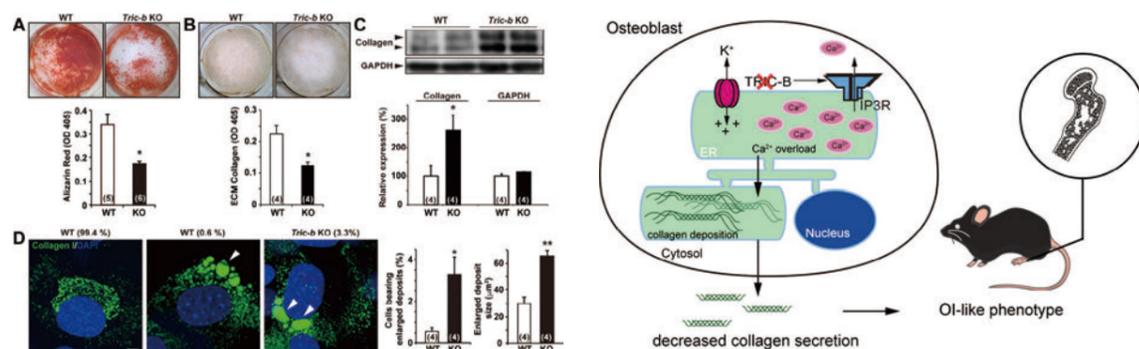


図1: Tric-b欠損マウス由来の骨芽細胞におけるコラーゲン分泌障害
Tric-b欠損マウスから単離し培養と分化誘導を行った骨芽細胞は(A)細胞外マトリックスにおけるリン酸カルシウムの沈着並びに(B)コラーゲン分泌がいずれも野生型と比較して減少していた。反対に、(C)細胞内のコラーゲンは顕著に増加しており、(D)小胞体への過剰蓄積が観られた。

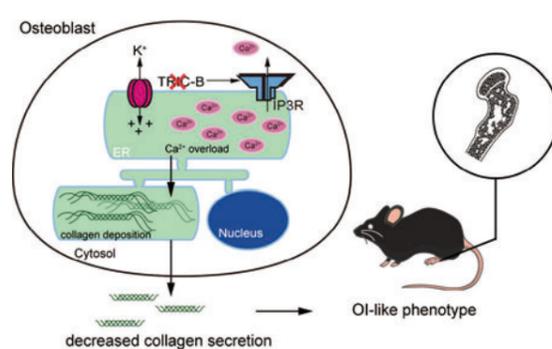


図2: Tric-b欠損から骨形成不全に至るメカニズムの模式図
Tric-b欠損マウスの骨芽細胞では、Ca²⁺ハンドリング異常に起因する小胞体カルシウムの過剰蓄積が生じ、小胞体におけるコラーゲン異常蓄積と分泌不全が起こった結果、細胞外基質の構築が障害され、結果的に骨形成不全症様の表現形に至るものと考えられる。

小胞体カウンターイオンチャンネルが骨形成に果たす生理的役割の一端を解明

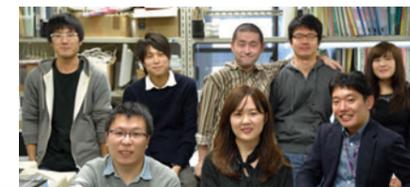
Ca²⁺は細胞内セカンドメッセンジャーとして、ホルモン放出、筋収縮、増殖や細胞死など多彩かつ重要な細胞機能に関与しています。細胞内のCa²⁺上昇は小胞体(ER)ストアCa²⁺の放出と細胞外からのCa²⁺流入により構成されます。ERからのCa²⁺放出の際、正荷電しているCa²⁺の小胞体からの流出はER内腔に負電荷を与えるため、Ca²⁺の効率的かつ持続的放出にはカウンターイオンの移動による電気的な中和が必要だと推測されますが、これを担う遺伝子は不明でした。近年、当研究室において三量体細胞内カチオン(Trimeric intracellular cation)チャンネルサブタイプTRIC-A及びTRIC-BがカウンターイオンチャンネルとしてERからのCa²⁺を支え様々な細胞機能に重要な役割を果たしていることを明らかとしました。更に、最近複数の遺伝子解析研究から、TRICチャンネルのうちでもTRIC-Bが骨形成不全症(OI, osteogenesis imperfecta)の原因遺伝子として報告されました。骨形成不全症は重篤な骨密度低下を特徴とする遺伝疾患です。ほとんどのOIはI型コラーゲン遺伝子またはその翻訳後修飾酵素や転写因子の変異に起因しており、骨芽細胞が合成する骨基質の量的または機能的不良により骨石灰化が障害されます。このように、直接または間接的にI型コラーゲンそのものに関連する遺伝子変異がOI症例の9割程度の原因となっていますが、残り1割程度がI型コラーゲン非関連遺伝子変異に起因しています。これらのI型コラーゲン非関連遺伝子の中に、TRIC-Bが含まれていました。TRIC-B遺伝子変異に起因する複数の常染色体劣性タイプのOI家系において、タンパク質中央部でのナンセンス点変異やコード領域のエクソン欠失を含む5種類の変異遺伝子が報告されました。タンパク質構造の観点から、これらのOI症例ではTRIC-Bの生理機能が大きく損なわれていることが想定されます。そこで、本研究では未解明であったTRIC-Bの骨形成における生理機能と、その変異や欠損によるOI病態生理機構の解明を目的としました。

Tric-b欠損マウスの骨を詳細に観察した結果、Tric-b欠損マウスは頭蓋骨や肋骨、大腿骨などの主要骨格において、硬骨の石灰化とコラーゲンの沈着のいずれもが減少していました。コラーゲンを合成していると思われる骨芽細胞の電子顕微鏡観察により、Tric-b欠損骨芽細胞では、異常に大きく膨らんだERが観察されただけでなく、細胞内におけるコラーゲン含有分泌顆粒や、細胞外基質におけるコラーゲンファイバー形成も野生型に比べて減少していることがわかりました。初代培養した骨芽細胞を用いた解析から、本来ERからゴルジ体に輸送された後細胞外に分泌されるべきコラーゲンが、Tric-b欠損骨芽細胞ではERに異常蓄積していることがわかりました(図1)。さらに、Tric-b欠損骨芽細胞ではERで合成されたタンパク質の翻訳後修飾や細胞内小器官間輸送、細胞外への分泌といったプロセスに必要なERからのCa²⁺の放出が障害されており、ERにCa²⁺が過剰蓄積していることがわかりました。一方で、骨吸収を担う破骨細胞においては、骨吸収能力やCa²⁺ハンドリングのいずれにも大きな異常は観察されませんでした。これらの結果から、骨芽細胞におけるTric-b欠損がCa²⁺ハンドリングを障害し、コラーゲンの細胞内異常蓄積と細胞外への分泌不全を来した結果、骨基質コラーゲン量が低下して石灰化が障害されたことが、Tric-b欠損による全身性のOI様症状の主たる原因であると考えられました(図2)。

今回の研究結果から、Tric-b欠損マウスは有用な骨形成不全症モデル動物であり、TRIC-B遺伝子変異に起因する希少なOIのみならず、骨密度改善薬の開発に資するものと考えられます。TRIC-Bが骨芽細胞におけるコラーゲン分泌を通じた骨形成に関与しているという新たな発見は、骨形成の分子メカニズムを理解するための基礎研究に貢献するものであると同時に、骨形成不全症の診断マーカーや治療標的分子などへの応用も期待されます。

京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野

生体分子群はお互いに物理的および機能的に相互作用し、多彩な化学反応を引き起こすことにより、多様で柔軟な生命現象を構築しています。生体認識学分野では、基本手法として生化学・遺伝子実験法を用いることにより、その生命現象を分子レベルで明らかにする研究を遂行しています。生命にとって、細胞内外のストレスにตอบสนองし、生体内の恒常性を保つための仕組みは非常に重要であり、この機構が破綻すると様々な疾患を引き起こされます。この機構には環境の変化を感じるセンサーが大事な役割を担っています。私たちはセンサーとして働くイオンチャンネルや受容体の動きを解明することで、これらの異常によって現れる病態を理解するとともに、新たな薬の創出に役立てることを目指しています。研究活動によりもたらされる成果は、基礎生物学の発展に寄与するのみではなく、薬物開発に向けた有用な標的分子の設定や遺伝子疾患等の病態解明などへも貢献しています。



RasおよびTGF-βシグナルはΔNp63転写プログラムを促すことによってがんの進行を促進する

Ras and TGF-β signaling enhance cancer progression by promoting the ΔNp63 transcriptional program

森川 真大¹ 鯉沼 代造² 水谷 アンナ² 平野 雄大² 江幡 正悟² Anders Sundqvist¹ 川崎 夏実²
Jessica Cedervall³ Anna-Karin Olsson³ 油谷 浩幸⁴ Aristidis Moustakas^{1,3}

¹ Ludwig Cancer Research, Uppsala University ² Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University
³ 東京大学大学院 医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学 ⁴ 東京大学 先端科学技術研究所 ゲノムサイエンス分野



左からEleftheria Vasilaki, 宮園 浩平, Carl-Henrik Heldin

宮園 浩平 Kohei Miyazono
東京大学大学院 医学系研究科 病因・病理学専攻 分子病理学分野 教授

Eleftheria Vasilaki
Postdoctoral Fellow, Ludwig Cancer Research

Carl-Henrik Heldin
Director, Ludwig Cancer Research

Contact 宮園 浩平 **E-mail** : miyazono@m.u-tokyo.ac.jp **E-mail** : c-h.heldin@licr.uu.se
所在地 : 113-003 東京都文京区本郷7-3-1 **所在地** : Box 595, BMC, SE-751 24 Uppsala, Sweden
URL : http://beta-lab.umin.ac.jp/ **URL** : http://www.licr.uu.se/

Abstract

転写因子のp53ファミリーには、上皮細胞における遺伝子発現の制御因子であるp63が含まれる。p63が腫瘍抑制作用を發揮するか腫瘍促進作用を發揮するかは、スプライシングによって作られるアイソフォームの相違や、細胞の状況に依存するタンパク質の会合、さらには変異型p53による拮抗作用など、複雑な分子機構で決定される。ΔNp63は、アミノ末端切断型のアイソフォームで、上皮由来のがん細胞で発現する主たるアイソフォームである。変異型p53とΔNp63を発現するHaCaT表皮角化細胞において、変異型p53はΔNp63転写活性に拮抗するが、活性型Rasやトランスフォーミング増殖因子-β(TGF-β)シグナル経路の活性化により、変異型p53タンパク質の発現が減少し、ΔNp63の標的遺伝子結合と転写活性化が促進されることを我々は見出した。ΔNp63によって誘導される遺伝子産物の中にはデュアル特異性ホスファターゼ6(DUSP6)があり、DUSP6はおそらくp53を脱リン酸化することによって変異型p53の分解を促進した。変異型p53を発現する乳がんおよび皮膚扁平上皮がん細胞において、すべてのp63のアイソフォームまたはDUSP6およびDUSP7(DUSP6/7)の発現をノックダウンすると、無刺激下での、あるいはTGF-β誘導性またはRasを活性化させるEGF誘導性の細胞運動や浸潤が阻害された。逆に、ΔNp63を過剰発現させた乳がん細胞をマウスの心臓内に注射すると、様々な組織に転移巣を形成する能力が高まり、こうした転移形成能の上昇は、ΔNp63過剰発現細胞においてDUSP6/7をノックダウンすると阻害された。さまざまな腫瘍におけるΔNp63の高発現と患者の予後不良との間には相関が認められ、p53をコードする遺伝子に変異がある腫瘍を有する患者において、この相関がより強く見られた。以上から、発がん性のRasおよびTGF-βシグナルは、ΔNp63転写プログラムの活性化を通じて、がんの進行を促進することが明らかとなった。

Figure and Note

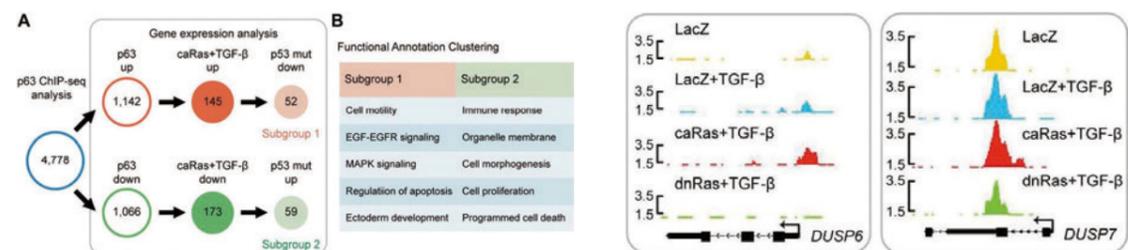


図1: RasとTGF-βシグナルで制御されるp63標的遺伝子の同定
(A) ChIP-seq解析により同定されたp63結合標的遺伝子の中で活性型(ca) RasとTGF-βシグナルによって発現が変動する遺伝子を同定、その中で変異型(mut) p53で変動する遺伝子群を同定した。(B) Gene ontology解析でこれらp63標的遺伝子群の機能に関する情報を得た。

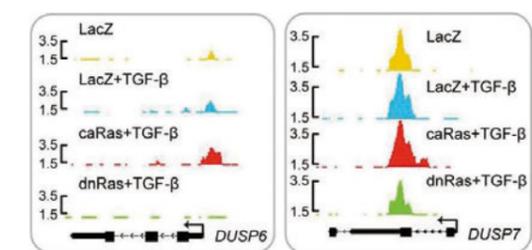


図2: RasとTGF-βシグナルに制御されるDUSP6とDUSP7の発現におけるp63の作用
DUSP6とDUSP7遺伝子領域へのp63の結合に対するRasとTGF-βシグナルの作用。ChIP-seq解析の結果を示す。caRAS, constitutively active Ras; dnRas, dominant-negative Ras.

がんの進展におけるp53ファミリーとRas、TGF-βのシグナルネットワーク

がんは様々ながん遺伝子やがん抑制遺伝子の異常が蓄積することで発生し、進展します。Transforming growth factor-β(TGF-β)は進行したがんでは上皮-間葉転換(epithelial-mesenchymal transition, EMT)を誘導し、がんの進展に密接に関わりますが、その作用にはRasシグナル経路との協調作用が重要であることが知られています。一方でがん抑制遺伝子の代表とも言えるp53には構造の類似した分子としてp63とp73が知られていますが、これらの分子は腫瘍抑制因子としての働きだけでなく腫瘍を促進する働きがあることが明らかとなっています。p53はヒトの腫瘍で高頻度に遺伝子変異が見られるのに対し、p63では遺伝子変異は稀ですが、2つのスプライシングアイソフォーム(Tap63とΔNp63)があり、後者が扁平上皮がんや乳がんなどでがん遺伝子として働くことが知られていません。

今回私たちは、スウェーデンのLudwigがん研究所と共同で、TGF-βとRasがん遺伝子の協調作用とp53ファミリーとの関連を明らかにしました。p53に遺伝子変異を有するヒト表皮角化細胞を用いてΔNp63のゲノム上でのDNA結合パターンを解析したところ、がん細胞で活性型となったRasとTGF-βシグナルの存在下ではΔNp63の結合部位が増加し、RasやTGF-βシグナルの非存在下とは大きく異なる結合パターンを示すことが明らかとなりました。

p53ファミリーのタンパク質は四量体を形成して作用を發揮します。変異型p53はp63と四量体を形成し、p63の作用を抑制する作用があります。興味深いことに活性型RasとTGF-βシグナルの存在下では変異型p53タンパク質がユビキチン-プロテアソーム経路で分解され、p63と変異型p53の複合体が減少し、ΔNp63の転写活性が上昇すると考えられました。

私たちはさらに、ΔNp63の標的遺伝子を網羅的にスクリーニングしたところ、脱リン酸化酵素であるDUSP6とDUSP7がΔNp63で誘導されること明らかとなりました。DUSP6やDUSP7は乳がんや皮膚扁平上皮がんの運動や浸潤と関連することが知られている酵素で、私たちの解析でもΔNp63、DUSP6、DUSP7が細胞運動や浸潤を促進することを確認することができました。

TGF-βは細胞増殖抑制作用やアポトーシス促進作用により腫瘍抑制作用を發揮しますが、進行したがんではEMTの誘導などにより腫瘍促進作用を發揮します。Rasシグナル経路がTGF-βのシグナルに重要な役割を果たすことは知られていましたが、p53ファミリーと、TGF-βやRasシグナル経路の関わりは十分に明らかになっていませんでした。本研究の成果は、がん遺伝子、がん抑制遺伝子の複雑なネットワークはTGF-βのシグナル経路にも大きく関与することを示しており、今後の更なる発展が期待されます。

日本とヨーロッパの研究者をつなぐ TGF-βミーティング

私たちはスウェーデンやオランダを中心としたヨーロッパのTGF-β研究者と20年以上にわたって共同研究を続けています。TGF-βミーティングは2000年以降毎年スウェーデンUppsalaまたはオランダLeidenで交互に開催され、最近では中国からの研究者も加わり、活発な交流を続けています。



脂質ラフトにおいてリポアラビノマンナンがラクトシルセラミドに結合することはヒト好中球によるマイコバクテリアの貪食に不可欠である

Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of mycobacteria by human neutrophils

栗原 秀剛¹ 森田 康裕^{2,3} 木下 タロウ³ Laura Mauri⁴ Alessandro Prinetti⁴ Sandro Sonnino⁴ 横山 紀子⁵ 小川 秀興⁵ 高森 建二⁵

¹ 順天堂大学医学部 解剖学・生体構造学講座 ² Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, Interdisciplinary Laboratory for Advanced Technologies, University of Milan
³ Department of Microbiology, University of Massachusetts, Amherst ⁴ 順天堂大学大学院 医学研究科 環境医学研究所
⁵ 大阪大学 微生物病研究所 免疫不全疾患研究分野



中山 仁志 Hitoshi Nakayama
順天堂大学 医療看護学部 生化学研究室
順天堂大学大学院 医学研究科 環境医学研究所 准教授

岩淵 和久 Kazuhisa Iwabuchi
順天堂大学 医療看護学部 生化学研究室
順天堂大学大学院 医療看護学研究科 感染制御看護学分野
順天堂大学大学院 医学研究科 環境医学研究所 教授

左から中山 仁志、岩淵 和久

Contact 岩淵 和久 E-mail: iwabuchi@juntendo.ac.jp
所在地: 279-0023 千葉県浦安市高洲2-5-1
URL: http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labokankyo_igaku/k4_iwabuchi.html

Abstract

病原性抗酸菌は好中球などの宿主貪食細胞内で生き残るために、マンノース-キャップ型リポアラビノマンナン(ManLAM)等の病原性因子を利用する。我々は、ヒト好中球による抗酸菌の貪食と取り込まれた抗酸菌の細胞内での運命におけるラクトシルセラミド(LacCer, CDw17)に富んだ脂質ラフトの役割を検討した。C24脂肪酸鎖を含むLacCerとSrcファミリーキナーゼ(SFK)であるLynとの会合は、好中球による抗酸菌の貪食に必須であった。LacCer含有リソソーム、LacCerをコートしたプラスチックプレート、およびLAMをコートしたビーズを用いた解析は、抗酸菌の貪食はLacCerがLAMに結合することで仲介されることを示した。病原性抗酸菌由来ManLAMおよび非病原性抗酸菌(*Mycobacterium smegmatis*)由来のホスホイノシトール-キャップ型LAM(PILAM)の両方がLacCerと同等に結合し、貪食反応を刺激した。しかしながら、LAMマンナンコアの α 1,2-モノマンノース側鎖を作れない、 α 1,2-マンノシルトランスフェラーゼを欠失した*M. smegmatis*変異株(Δ MSMEG_4247)由来のPILAMは、LacCerに結合せず、貪食反応を起こさなかった。抗LacCer抗体は、貪食された非病原性抗酸菌を含む好中球の食胞(ファゴソーム)からSFKであるHckを免疫沈降したが、貪食された病原性抗酸菌を含む好中球の食胞からは免疫沈降しなかった。さらに、低分子干渉RNAによるHckのノックダウンは、非病原性抗酸菌を含む食胞とリソソームの融合を減少させた。さらなる解析により、ManLAMは、食胞膜のLacCerの脂質ラフトとHckとの会合を阻害し、効果的に食胞とリソソームの融合を阻止するが、PILAMは阻止しないことが示された。まとめると、これらの発見は病原性抗酸菌がManLAMとLacCerの脂質ラフトとの結合を介して好中球内へ侵入するだけでなく、Hckと共役したLacCerの脂質ラフトを介したシグナル伝達を妨害し、食胞へのリソソームの融合を阻止することを示唆している。

Figure and Note

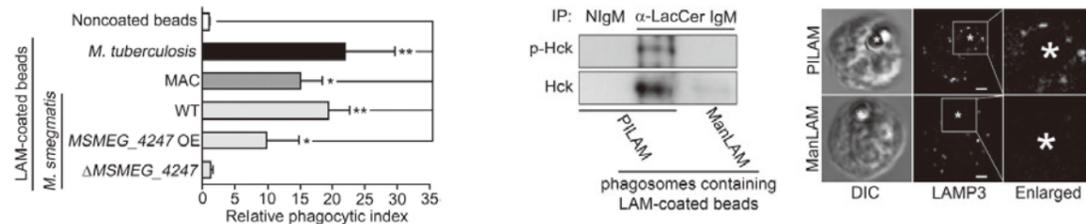


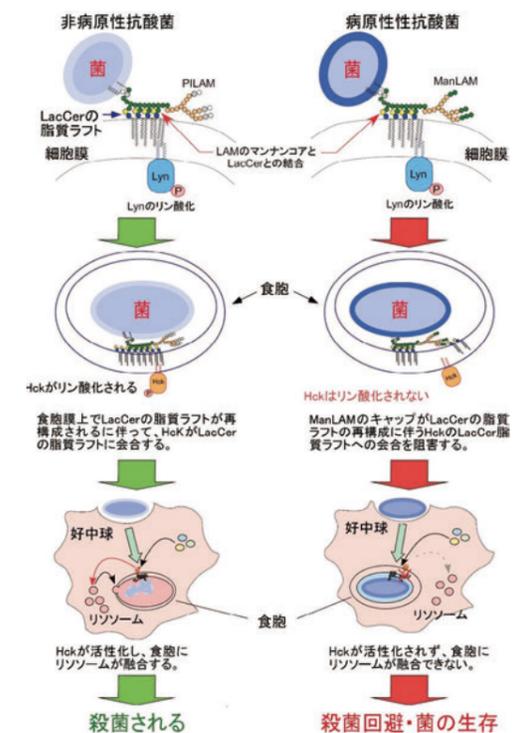
図1: ヒト好中球の抗酸菌貪食におけるLAMの α 1,2モノマンノース側鎖の重要性
好中球と各抗酸菌由来LAMをコートしたビーズを45分間共培養し貪食能を測定したところ、LAMの α 1,2モノマンノース側鎖を欠失した Δ MSMEG_4247株のみ貪食能の増強が認められなかった。

図2: ManLAMによる食胞膜LacCerとHckの会合阻害とリソソーム融合抑制
好中球からLAMコートビーズを含む食胞を分離し抗LacCer抗体で免疫沈降したところ、ManLAMではHckが共沈されず(左図)リソソーム融合が抑制されていた(右図)。LAMP3, リソソームマーカー。

結核菌がヒト好中球による殺菌機構から逃れる仕組みを解明

結核は、全世界で960万人が罹患し150万人が死亡する、人類の脅威となる感染症の一つです。さらに近年、多剤耐性結核菌による感染が顕著に増加しており、新たな作用機序に基づく結核治療薬の開発が急がれています。これまでの研究から、結核菌の宿主貪食細胞における殺菌回避には、菌体壁成分であるマンノース結合型LAM(ManLAM)が関与し、菌がスフィンゴ糖脂質の脂質ラフトを介し細胞内へ取り込まれることが殺菌回避に重要であると言われています。しかしながら、ヒトにおける結核菌の殺菌回避メカニズムの詳細は不明でした。そこで私たちは、病原性抗酸菌によって好中球の貪食・殺菌機構が破綻するメカニズムを明らかにするため、ラクトシルセラミド(LacCer)の脂質ラフトに注目しました。

まず、ヒトの好中球がLacCerを使って抗酸菌を貪食するのか検討しました。LAMには、病原性抗酸菌が持つManLAM以外に、非病原性抗酸菌が持つホスファチジルイノシトールキャップ型LAM(PILAM)などが存在します。全抗酸菌のLAMには、マンノースが α 1,6結合で繋がった糖鎖の所々に、マンノースが α 1,2結合したマンナンコアと呼ばれる側鎖が存在します。そこで、 α 1,2マンノース転移酵素欠損*M. smegmatis*変異株を作成したところ、好中球は変異株を貪食できませんでした。さらに、変異株由来LAMをコートしたビーズも貪食しませんでした(図1)。次に、PILAMコートビーズを貪食させると、食胞とリソソームとの融合に欠かせないHck分子がLacCerの脂質ラフトに会合・活性化され、食胞にリソソームが融合しました。一方で、ManLAMをコートしたビーズでは、HckがLacCerの脂質ラフトに会合せず、活性化されませんでした(図2)。また、食胞とリソソームの融合も起こりませんでした。以上の結果から、ヒト好中球はLacCerとLAMのマンナンコアとの結合を介して抗酸菌を貪食すること、および、食胞に取り込まれた病原性抗酸菌はManLAMのマンナンキャップを使ってLacCerの脂質ラフトの食胞膜上での形成を阻害し殺菌回避することを明らかにしました(右図)。



今回私たちが初めて明らかにした、病原性抗酸菌がManLAMとLacCerの脂質ラフトとの結合を介し好中球に貪食され、食胞成熟を阻害するメカニズムは、従来の結核治療薬が標的としてきた機構とは異なっています。したがって、今回の成果を応用することで、新たな多剤耐性結核治療薬や非結核性抗酸菌感染症治療薬の開発に繋がります。今後は、構造活性相関の解明を目指して、LacCerとManLAMとの間の結合様式を構造学的に解析し、さらに、ManLAMが特異的に抑制するLacCer関連シグナル伝達分子を網羅的に解析することで、ManLAMが標的とするLacCer関連シグナル伝達経路を明らかにする予定です。

順天堂大学大学院 医学研究科環境医学研究所 岩淵グループ

私たちの研究グループは、糖脂質膜マイクロドメイン(脂質ラフト)の情報伝達機構の解明と、脂質ラフトや糖脂質代謝産物を介した感染・免疫応答や分化誘導機構について研究を展開しています。糖脂質は細胞膜表面に局在する分子です。これまでに、極長鎖脂肪酸鎖を持つスフィンゴ糖脂質が細胞内情報伝達分子と直接会合すること、病原体関連分子パターンが直接スフィンゴ糖脂質に結合し細胞内へと情報を伝えるパターン認識受容体や他の受容体の情報伝達ユニットとなること等を明らかにしています。



インスリン刺激の時間パターンおよび濃度による 選択的遺伝子発現制御

Selective control of up-regulated and down-regulated genes by temporal patterns and doses of insulin

柚木 克之^{1,2} 角田 裕晶³ 久保田 浩行^{4,5} 宇田 新介⁴ 藤井 雅史¹ 国田 勝行¹ 星野 太佑¹ 幡野 敦¹ 伊藤 有紀³
佐藤 みはる¹ 鈴木 穰³

¹ 東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻

³ 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻

² JST さきがけ「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく

⁴ 九州大学 生体防御医学研究所 トランスオミクス医学研究センター 統合オミクス分野

革新的医療基盤技術の創出]

⁵ JST さきがけ「生体における動的恒常性維持・変容機構の解明と制御」



佐野 貴規 *Takanori Sano*
東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻

川田 健太郎 *Kentaro Kawata*
東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻

大野 聡 *Satoshi Ohno*
東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 特任助教

黒田 真也 *Shinya Kuroda*
東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻 教授

Contact

黒田 真也 E-mail: skuroda@bs.s.u-tokyo.ac.jp
所在地: 113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 理学部3号館4階411号室
URL: http://kurodalab.bs.s.u-tokyo.ac.jp/ja/index.html

大野 聡 E-mail: s-ohno@bs.s.u-tokyo.ac.jp
川田 健太郎 E-mail: kawata@bs.s.u-tokyo.ac.jp
佐野 貴規 E-mail: sano@bs.s.u-tokyo.ac.jp

左から佐野 貴規(左上)、川田 健太郎(右上)、大野 聡(左下)、黒田 真也(右下)

Abstract

インスリン分泌は食後に一過的に増加し、血中インスリン濃度が上昇する。絶食時にはインスリン分泌は抑制され、血中インスリン濃度は低く保たれる。我々は肝がん由来のFAO細胞を用いてインスリンの様々な時間パターンおよび濃度に対する転写応答を解析し、上方制御される13種類のインスリン応答性遺伝子(IRG)と、下方制御される16種類のIRGを同定した。インスリンを一度に添加するステップ状の刺激、もしくはインスリンを添加して所定の時間後除去するパルス状の刺激に対して、上方制御されるIRGは下方制御されるIRGよりも速やかに応答したが、下方制御されるIRGは上方制御されるIRGよりも低い濃度のインスリンで応答した。インスリン応答の数理モデルを、(i)インスリンから転写へのシグナル伝達、および(ii)転写とmRNAの安定性という2段階で構築した結果、第一段階では下方制御されるIRGの方が速く応答し、第二段階では上方制御されるIRGの方が速く応答することが示された。FAO細胞で解析した上方制御または下方制御されるIRGの一部は、インスリンを注射したラットの肝臓でも同様に上方制御または下方制御された。このように、細胞はインスリンに応答できるだけでなく、刺激の強さと時間パターンを解釈して、異なる転写応答を生み出すことができる。これらの結果からは、インスリン産生または組織の応答性に異常を伴う肥満および2型糖尿病の治療に有益な知見が得られる可能性がある。

Figure and Note

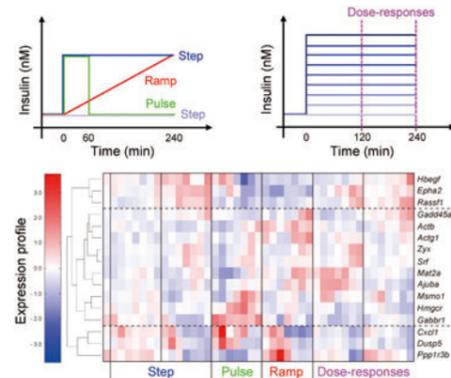


図1: 複数のインスリン刺激に対するインスリン応答性遺伝子の発現応答
ステップ・パルス・ランプ状のインスリン刺激、および濃度の異なるインスリン刺激に依存して、遺伝子ごとに異なる発現応答が観察された。

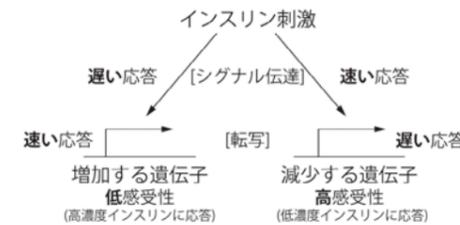


図2: 発現が増加または減少するインスリン応答性遺伝子の応答性の差異が生じる概念図
発現が増加する遺伝子はインスリンの食後の追加分泌(高濃度への速い変動)に応答しやすい一方で、発現が減少する遺伝子は絶食時の基礎分泌(低濃度域での遅い変動)に応答しやすいことを示唆している。

インスリンの時間パターンと濃度を 網羅的計測と数理モデルで読み解く

インスリンは血糖値を下げる唯一のホルモンであり、膵臓β細胞より分泌制御されます。インスリンが作用できなくなると糖尿病を発症します。健常人では血中インスリンは、食後の血糖上昇に応じて高濃度で一過的に分泌される追加分泌、絶食時でも低濃度で持続的に維持される基礎分泌などの時間変化を示します。インスリンは代謝など多彩な生理現象を制御しますが、その一部は遺伝子発現を介することが知られています。これまで、インスリン刺激による遺伝子発現変動を網羅的に調べた報告はありましたが、インスリン刺激の時間変化や濃度により、遺伝子発現の応答がどのように変わるのかについては不明でした。

我々は、ラット肝がん由来の培養細胞にインスリン刺激を施し、インスリン依存的に発現変動するインスリン応答性遺伝子を278種類同定しました。これらのうち、機能的に重要と考えられる遺伝子を選定し、発現が増加する遺伝子を13種類、発現が減少する遺伝子を16種類見出しました。次に、インスリン応答性遺伝子がインスリン刺激の濃度や時間変化に対してどのように応答するか、実験と数理モデルを用いて解析しました。濃度感受性と応答速度を数値化し詳細に調べた結果、発現が増加する遺伝子の方が減少する遺伝子に比べ、刺激濃度に対する感受性が低く(高濃度刺激で応答する)、かつ刺激に対して速く応答することが分かりました。注目すべきことに、応答速度の差異は遺伝子が転写される過程で生じることが、数理モデルから示唆されました。さらに、ラットを用いた個体レベルの解析から、増加あるいは減少するインスリン応答性遺伝子群のうちの一部は、実際に生体内でも同様の応答をすることが確かめられました。

以上の結果は、増加あるいは減少するインスリン応答性遺伝子群は、インスリンの濃度や時間変化に依存してそれぞれ選択的に制御されることを示しています。例えば、速く高濃度のインスリン(追加分泌)に対しては、発現が増加する遺伝子の方が主に応答する一方で、遅く低濃度のインスリン(基礎分泌)に対しては、発現が減少する遺伝子の方が主に応答することを示唆しています。

本研究での複数種類の刺激濃度やその時間変化を用いた実験・解析手法は、遺伝子発現だけでなく、応答の時間波形が得られる全ての生命現象に適用することができます。広範なインスリン作用の全貌を効率的に予測・制御するには、生体の応答特性を数値化して評価することが、理解への近道になると思われます。また、本研究の実験・解析手法は投薬や治療指針の提示に役立つ可能性があります。例えば、疾患モデルの動物個体に対しても種々の刺激濃度やその時間変化を能動的に変化させることにより、生体内での応答を選択的に制御することが可能になると期待されます。

私たちの研究について

私たちの研究の目標は、生物を「システム」として理解することです。様々な細胞機能に重要なシグナル伝達と代謝を対象に、実験的方法とコンピュータシミュレーションの両方を用いてシステム生物学という観点から細胞・個体を理解しようとしています。その過程で、「時間情報コード」と「トランスオミクス」の2つの概念を提唱して研究を進めてきましたが、今回の報告は両者を統合した初めての成果になります。



Publish your research in *Science Immunology*

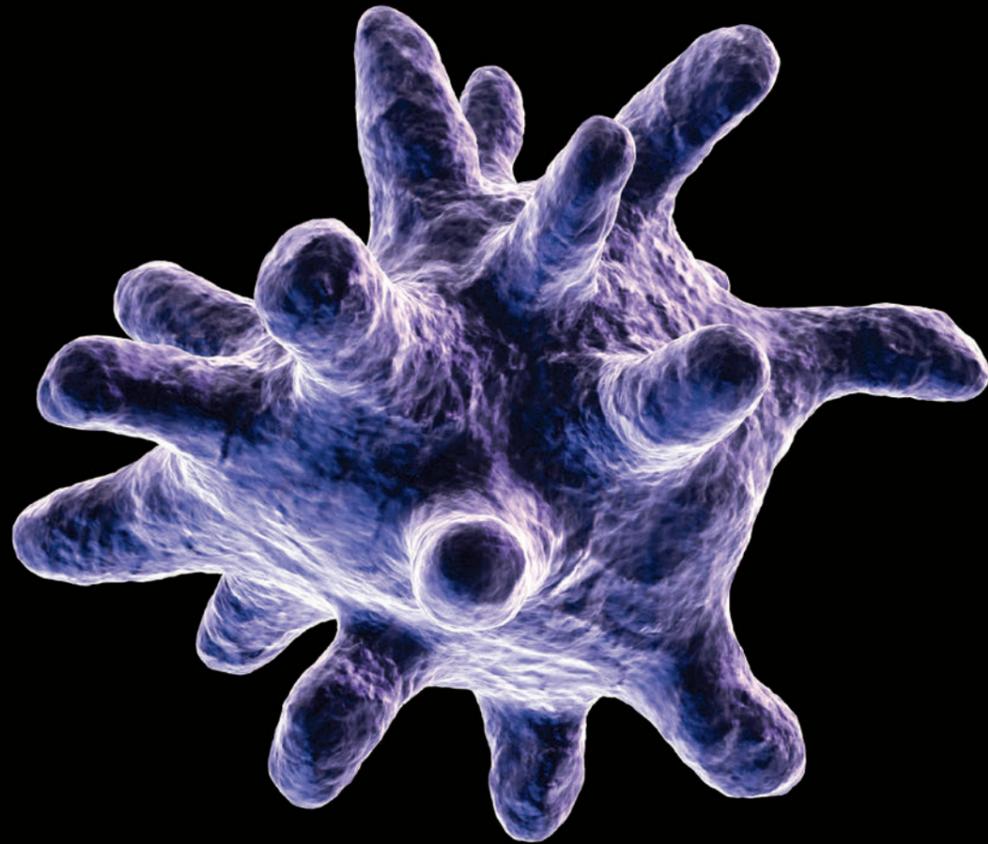


Image: Eraxion / iStockPhoto

— NOW ACCEPTING PAPERS —

Science Immunology, the newest member in the *Science* family of journals, provides original, peer-reviewed research articles that report critical advances in all areas of immunological research, including studies that provide insight into the human immune response in health and disease. Share your research with *Science Immunology*'s global readership and submit your manuscript today!

What will your discovery be?

Submit your manuscript today at
ScienceImmunology.org

ScienceImmunology
AAAS

BE THE CORE
MIND SPIRIT FACE
HEART REACH
CENTER VOICE
OF SCIENCE.

AAAS members harness the power of scientific thinking to help tackle complex, global challenges.

Join the community of scientists, engineers, and educators whose work impacts millions.

How will **YOU** make your mark in science?

Join AAAS today.
www.aaas.org/join



ペプチド合成・抗体作製 受託サービス

国内
自社合成

COSMO BIO - Made In Japan

ものづくり立国・日本であることの誇り

ペプチド合成

修飾品・合成難易度の高いペプチド合成

AQUA グレードペプチド合成

タンパク質絶対定量用途の安定同位体標識ペプチド合成

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

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

成果保証制、成果品の知財・権利はお客様へ譲渡



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

TEL: (03)5632-9744
E-mail: peptide-ab@cosmobio.co.jp
URL: <http://www.cosmobio.co.jp/>

「やっぱり紙がいいんだよね…」

ぜんぶで10冊くらいになりますが、大丈夫ですか？

冊子版「抗体百科」を最後に発行したのが2008年。
その当時、12万品目の抗体が掲載され、背幅は6センチにもなりました。
そして今、コスモ・バイオは100万品目以上*1を取り扱っております。

さすがに、この量を冊子にまとめるのは難しくなりました。
これからは、Web版「抗体百科」があなたのおそばにいます。

品ぞろえだけではありません。
主要な12,000ターゲット*2の抗体は、すぐにお届けできるよう国内在庫を持ち、
安心してお使いいただくため
データシート記載の交差種、適用の100%保証を行うなど、
様々な取り組みをしています。

これからも、ずっと、おそばに、

「抗体百科」



抗体百科 Web版

国内最大級の抗体検索サイト

コスモ・バイオの抗体百科に Go!
www.cosmobio.co.jp

*1: 重複ターゲットに対する抗体を含む数値
*2: 重複ターゲットに対する抗体を含まない数値

コスモ・バイオは、 **Science Signaling**の

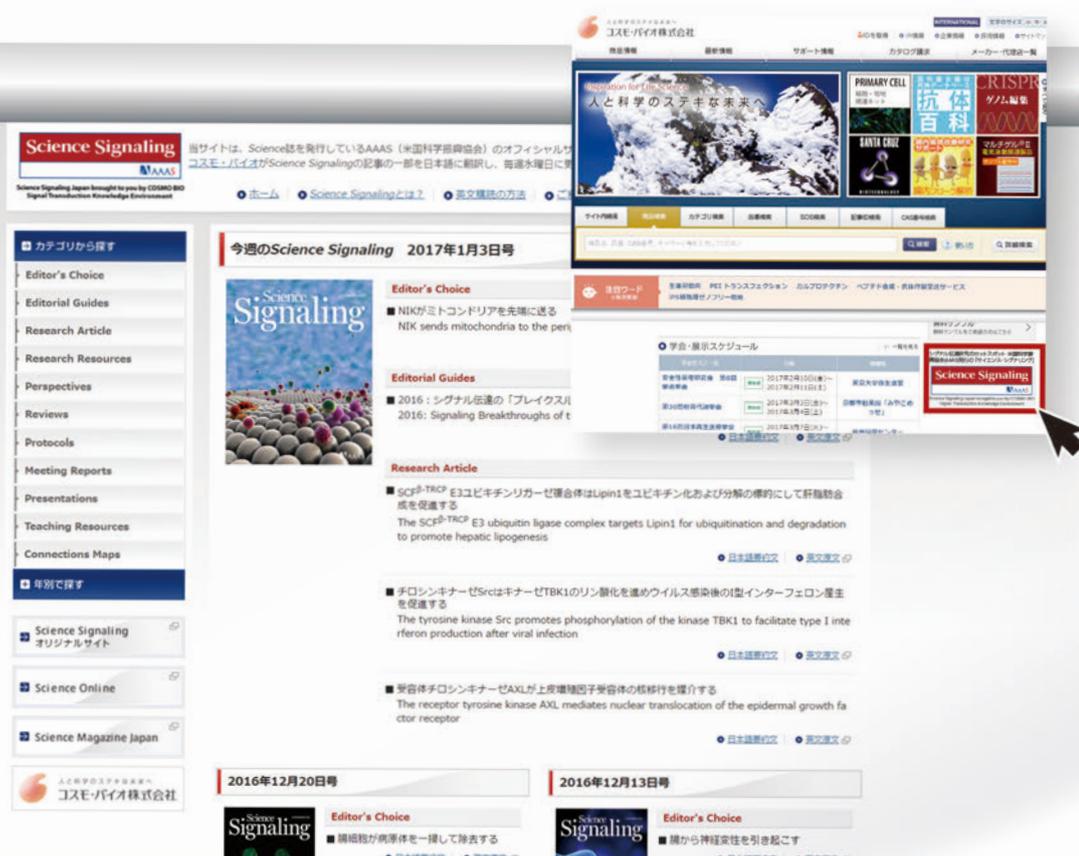
細胞シグナル伝達のトップジャーナル — 米国科学振興協会 (AAAS) 発行 —

日本語サイトを運営しています。

Science Signaling



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



コスモバイオ



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