Science 1 2020 Issue Signal Science 2010

Japanese Scientists in Science Signaling 2019

日本人研究学シグナリングに載った

COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

Science Signaling

この Japanese Scientists in *Science Signaling* 2019では、2019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、2020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 大伸社コミュニケーションデザイン 〒 151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 2丁目 9-9 TEL:03-3405-0603 FAX:03-3405-0653 https://www.daishinsha-cd.jp/

発行日

2020年3月

© 2020 American Association for the Advancement of Science (AAAS). All Rights Reserved.

Signaling Signaling

Japanese Scientists in Science Signaling 2019

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。同誌は1996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6号目を数えます。本冊子には、2019年にScience Signalingで発表された22件の研究を紹介しています。一昨年は8件、昨年は16件でしたから、2019年は多くの日本人がこの分野で活躍したことがわかります。本誌と同様、海外に住む、または海外との共同研究が増え、世界と繋がりながら研究が進んでいるのは興味深いことです。

本誌には、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。

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、生体制御機構のあらゆる側面に関わる重要な知見をもたらしています。今回取り上げた研究も、腫瘍細胞の薬剤耐性や炎症反応への関与など臨床応用につながりそうなものから、組織の分化や発達を司る生命の基礎となるメカニズムの解明に至るまで、今後の生命科学をあらゆるシーンで強力に牽引していくことでしょう。本誌が、生命科学研究に携わる多くの方にとってインスピレーションの基盤となることを祈念しています。

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

> 2020年3月 編集チーム一同

Japanese Scientists in *Science Signaling* 2019 シグナリングに載った日本人研究者

Science Signal	ing 投稿について	6
1月1日号 Research Article	aPKC 特異的活性レポーターにより明らかにされた スフィンゴシン1 - リン酸による非典型プロテインキナーゼ C の活性化	8
	Activation of atypical protein kinase C by sphingosine 1-phosphate revealed by an aPKC-specific activity reporter 神戸大学大学院 医学研究科 生化学・分子生物学講座 助教 Visiting Scholar, Department of Pharmacology, University of California at San Diego 梶本 武利 Distinguished Professor, Department of Pharmacology, University of California at San Diego Alexandra C. Newton	
1月15日号 Research Article	フィトスフィンゴシンとCD300bの相互作用がザイモサンにより誘導される 一酸化窒素依存性の好中球動員を促進する	10
	The phytosphingosine-CD300b interaction promotes zymosan-induced, nitric oxide-dependent neutrophil recruitment 現順天堂大学大学院 医学研究科 アトビー疾患研究センター 先任准教授 旧東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野 / 幹細胞治療研究センター 幹細胞シグナル制御分野 准教授 北浦 次郎東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野 / 幹細胞治療研究センター 幹細胞シグナル制御分野 博士研究員 高橋 まり子	
1月22日号 Research Article	転写抑制因子 REST は髄芽腫のマウスモデルにおいて、 <i>Ptch1</i> 座位で系列・ 分化段階特異的なクロマチン凝縮を引き起こし、AKT 活性化を促進する・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	12
	Instructor, Department of Pediatrics, University of Texas, MD Anderson Cancer Center 前川 真治 Associate Professor, Department of Pediatrics, University of Texas, MD Anderson Cancer Center Vidya Gopalakrishnan	
2月5日号 Research Article	アダプタータンパク質 CIN85 による T 細胞の活性化および機能の抑制 Inhibition of T cell activation and function by the adaptor protein CIN85 理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム チームリーダー 大阪大学 免疫学プロンティア研究センター (IFReC) 免疫シグナル 招へい教授 齊藤 隆 理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム 上級研究員 多根 彰子 理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム L級研究員 「多根 彰子」 理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム Institute for Research in Molecular Medicine, Main Campus, Universiti Sains Malaysia (現 Microbiota Host Interactions, Nutrigenomics & Metabolism Laboratory, Lee Kong Chian School of Medicine, Nanyang Technological University) Mei Suen Kong	14
2月19日号 Research Article	グルタチオンS-転移酵素は脳炎症時に 炎症誘発性のアストロサイト - ミクログリア間連絡を促進する Glutathione S-transferases promote proinflammatory astrocyte-microglia communication during brain inflammation Assistant Professor, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Johns Hopkins University School of Medicine (現 Associate Professor, Department of Psychiatry and Behavioral Neurobiology, The University of Alabama at Birmingham School of Medicine) 加野 真一 M.D., Johns Hopkins Medicine 澤明	16

2月26日号	慢性的TGF-β曝露はEMT安定化、腫瘍幹細胞性、抗がん剤耐性を促進し、	
Research Article	バイトピックなmTOR 阻害に対して脆弱性を示す	18
	Chronic TGF-β exposure drives stabilized EMT, tumor stemness, and cancer drug resistance with vulnerability to bitopic mTOR inhibition	
	Postdoctoral fellow, Department of Cell and Tissue Biology, University of California at San Francisco Eli and Edythe Broad Center of Regeneration Medicine and Stem Cell Research, University of California at San Francisco 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 助教 勝野 蓉子	
	東京大学大学院 医学系研究科 病因 · 病理学 專攻 分子病理学分野 教授 宮園 浩平	
	Professor, Department of Cell and Tissue Biology, University of California at San Francisco Eli and Edythe Broad Center of Regeneration Medicine and Stem Cell Research, University of California at San Francisco Helen Diller Family Comprehensive Cancer Center, University of California at San Francisco Professor, Department of Anatomy, University of California at San Francisco Rik Derynck	
4月9日号	IL-3刺激を受けたマウス好塩基球のIL-4産生における	
Research Article	STIM1ではなくSTIM2の中心的役割 ·····	20
	Pivotal role of STIM2, but not STIM1, in IL-4 production by IL-3-stimulated murine basophils	
	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 免疫アレルギー学分野 助教 (現 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞生理学分野 助教) 吉川 宗一郎	
4月9日号	TRPM7チャネルにより媒介される成長板軟骨細胞における	
Research Article	自発的 Ca ²⁺ 振動は骨発生を促進する	22
	TRPM7 channels mediate spontaneous Ca ²⁺ fluctuations in growth plate chondrocytes that promote bone development	
	京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野 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 市村 敦彦京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野 特定研究員 銭 年超	
5月21日号 Research Article	CRAC チャネルはアストロサイトの Ca ²⁺ シグナル伝達とグリオトランスミッター放出を制御して 海馬の GABA 作動性伝達を調節する	24
	CRAC channels regulate astrocyte Ca ²⁺ signaling and gliotransmitter release to modulate hippocampal GABAergic transmission	
	Postdoctral fellow, Department of Pharmacology, Northwestern University Feinberg School of Medicine (現大阪市立大学大学院 医学研究科 麻酔科学講座 講師) 堀耕太郎	
	Professor, Department of Pharmacology, Northwestern University Feinberg School of Medicine Murali Prakriya	
6月4日号 Research Article	副腎ステロイド、プロゲステロンおよびスピロノラクトンによる ゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体の転写活性化	26
	Transcriptional activation of elephant shark mineralocorticoid receptor by corticosteroids, progesterone, and spironolactone	
	北海道大学大学院 理学研究院 生物科学部門 生殖発生生物学分野 教授 / 北海道大学大学院 生命科学院 教授 勝義直	
6月25日号 Research Article	低用量メチル水銀曝露により誘発されるDrp1の脱イオウ化は 血行力学的負荷に対する心臓の脆弱性を増加させる	28
	Depolysulfidation of Drp1 induced by low-dose methylmercury exposure increases cardiac vulnerability to hemodynamic overload	_
	・ 九州大学大学院 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室 講師/自然科学研究機構(NINS)生命創成探究センター(ExCELLS) 心循環ダイナミズム創発研究グループ/自然科学研究機構(NINS)生理学研究所(NIPS)心循環ジグナル研究部門 西村 明幸	
	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 / 自然科学研究機構 (NINS) 生命創成探究センター (ExCELLS) 心循環ダイナミズム創発研究グループ 教授 / 自然科学研究機構 (NINS) 生理学研究所 (NIPS) 心循環ジグナル研究部門 教授総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学真内 教授 西田 基宗	

6月25日号 Research Article	アリル炭化水素受容体を介したキヌレニンのシグナル伝達が、 ヒト胚性幹細胞の未分化状態を維持する	30
	Kynurenine signaling through the aryl hydrocarbon receptor maintains the undifferentiated state of human embryonic stem cells	
	神戸医療産業都市推進機構 細胞療法研究開発センター センター長 理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 川真田 伸	
	神戸医療産業都市推進機構 細胞療法研究開発センター 技術員 山本 貴子	
7月9日号 Research Article	L型アミノ酸トランスポーター LAT1 は、 mTORC1 経路を介して破骨細胞形成を阻害し、骨の恒常性を維持する	32
	The L-type amino acid transporter LAT1 inhibits osteoclastogenesis and maintains bone homeostasis through the mTORC1 pathway	
	金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 薬理学研究室 准教授 (現 岐阜薬科大学 薬理学研究室 教授) 檜井 栄一	
	金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 薬理学研究室 (現 岐阜薬科大学 薬理学研究室) 堀江 哲寛	
8月20日号 Research Article	適応的交差薬剤耐性において 腫瘍表現型可塑性と代謝リモデリングを標的にする	34
	Targeting tumor phenotypic plasticity and metabolic remodeling in adaptive cross-drug tolerance	
	Associate Biologist, Division of Engineering in Medicine and Division of Renal Medicine, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital Instructor in Medicine, Harvard Medical School 市村 隆治	
9月3日号 Research Article	ジアシルグリセロールキナーゼζは アレルギー性気道炎症と気道過敏性を異なる機序で促進する ·······	0.0
		30
	Diacylglycerol kinase ζ promotes allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness through distinct mechanisms Associate Professor, Department of Pathology and Laboratory Medicine, Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania 上林 拓	
10月15日号 Research Article	発達に伴うKCC2の脱リン酸化は GABA作動性抑制発現さらに生存にも必須である	38
	Developmentally regulated KCC2 phosphorylation is essential for dynamic GABA-mediated inhibition and survival	
	浜松医科大学 医学部医学科 神経生理学講座 教授 浜松医科大学 光尖端医学教育研究センター 先進機器共用推進部 部長(兼任)教授 福田 敦夫	
	浜松医科大学 医学部医学科 神経生理学講座 助教 波部 美穂	
	Assistant Professor, Departments of Neurosurgery, Pediatrics, and Cellular and Molecular Physiology; Centers for Mendelian Genomics, Yale School of Medicine Kristopher T. Kahle	
11月5日号 Research Article	植物へテロ三量体GTP結合タンパク質の ヌクレオチド交換依存性および非依存性機能	40
	Nucleotide exchange-dependent and nucleotide exchange-independent functions of plant heterotrimeric GTP-binding proteins	
	Plant Genetic Engineering Laboratory, School of Agriculture and Food Sciences, University of Queensland (現 Postdoctoral Research Fellow, School of Chemistry and Molecular Biosciences, University of Queensland) 丸田 菜津美	

11月12日号 Research Article	ALK-1/SMAD/ATOH8経路は低酸素応答を減弱させ、	40
	肺動脈性肺高血圧症の発症を防止する	42
	The ALK-1/SMAD/ATOH8 axis attenuates hypoxic responses and protects against the development of pulmonary arterial hypertension	
	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 助教 Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University	
	Ludwig Institute for Cancer Research, Uppsala University 森川 真大	
	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 Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University	
	Ludwig Institute for Cancer Research, Uppsala University 宮園 浩平	
11月19日号	動的なパルミチン酸化がDKK1受容体であるCKAP4および	
Research Article	LRP6のマイクロドメインの局在を制御している	11
		44
	Dynamic palmitoylation controls the microdomain localization of the DKK1 receptors CKAP4 and LRP6	
	大阪大学大学院 医学系研究科 分子病態生化学 教授 菊池 章	
	大阪大学大学院 医学系研究科 分子病態生化学 佐田 僚太	
12月3日号	膵β細胞におけるハイプシン生合成は、	
Research Article	ポリアミン代謝と条件的な細胞増殖を関連付け、グルコース恒常性の維持に寄与する	46
	Hypusine biosynthesis in β cells links polyamine metabolism to facultative cellular proliferation to maintain glucose homeostasis	
	Center for Diabetes and Metabolic Diseases, Indiana University School of Medicine	
	Research Associate, Diabetes Research Program, Herman B Wells Center for Pediatric Research Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine	
	(現 Research Associate, Gene and Cell Therapy Program, Herman B Wells Center for Pediatric Research	
	Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine) 山田 健太郎	
	Professor, Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine/Professor, Department of Medicine, Indiana University School of Medicine Director, Herman B Wells Center for Pediatric Research	
	Director, Center for Diabetes and Metabolic Diseases, Indiana University School of Medicine (現 Professor of Medicine/Director of the Translational Research Center/Kovler Diabetes Center/	
	Department of Medicine, University of Chicago) Raghavendra G. Mirmira	
12月10日号	DishevelledとAxinのDIXドメイン間の直接的なヘテロタイプ相互作用が	
Research Article	β-cateninへのシグナル伝達を媒介する ·······	48
	A direct heterotypic interaction between the DIX domains of Dishevelled and Axin mediates signaling to β -catenin	
	兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 ピコバイオロジー専攻 准教授 柴田 直樹	

兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 ピコバイオロジー専攻 教授 樋口 芳樹

Japanese Scientists in Science Signaling | 5

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。

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(regulatory biology)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 (systems level analysis of regulatory biology)。構成はアブストラクト、本文(Introduction、Results、Discussion、Materials and Methods)。論文の理解、評価に不可欠ではない場合のみ Supplementary Materialとして別途添付可。

Research Resources: Research Article に投稿された論文の中から、新しい評価ツールや技術、データベース等を紹介する仮説駆動型の研究ではない記事。

Focus: Science Signalingで発表された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。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。

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。

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。論文の種類により規定が異なるので、それぞれのinstructions for authors にて詳細を確認すること。

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。

Supplementary 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。

Science: editorial policies

https://www.sciencemag.org/authors/science-journals-editorial-policies?_ga=2.26554685.1074055929.1572234410-1790342603.1572234410

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

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

Research Article および Research Resources (初回投稿)

https://stke.sciencemag.org/content/instructions-authors-research-articles

Focus (初回投稿)

http://stke.sciencemag.org/content/instructions-authors-focuses

Reviews(初回投稿)

http://stke.sciencemag.org/content/instructions-authors-reviews

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

aPKC特異的活性レポーターにより 明らかにされたスフィンゴシン1 - リン酸による 非典型プロテインキナーゼCの活性化

Activation of atypical protein kinase C by sphingosine 1-phosphate revealed by an aPKC-specific activity reporter

Alisha D. Caliman¹ Irene S. Tobias¹ 岡田 太郎² Caila A. Pilo¹ An-Angela N. Van¹ J. Andrew McCammon¹ 中村 俊一²

- ¹ Department of Pharmacology, University of California at San Diego
- 2 神戸大学大学院 医学研究科 生化学・分子生物学講座



左から梶本 武利、Alexandra C. Newton

梶本 武利 Taketoshi Kajimoto

神戸大学大学院 医学研究科 生化学・分子生物学講座 助教 Visiting Scholar, Department of Pharmacology, University of California at San Diego

Alexandra C. Newton

Distinguished Professor, Department of Pharmacology, University of California at San Diego

Contact

E-mail: tkajimot@med.kobe-u.ac.jp

所在地:650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1

URL: http://www.med.kobe-u.ac.jp/biochemistry/Home.html

Alexandra C. Newton E-mail: anewton@ucsd.edu

所在地: 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093

URL: http://newtonlab.ucsd.edu

Figure and Note

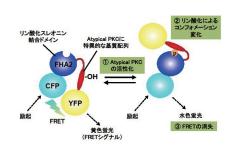


図1: Atypical PKC 特異的 Cキナーゼ活性レポーター(aCKAR)

aCKARは、CFP-YFP間の蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)現象を用いた1分 子FRETセンサーである。①細胞内でAtypical PKCが活性化し、②Atypical PKCに特異的な基質配列がリン酸化(P)を受けると、FHA2ドメインに結合すること でコンフォメーションが大きく変化し、③結果としてFRET現象が消失する。このよう にしてFRETシグナルの変化を検出することにより、Atypical PKCの可逆的な活 性化状態を生細胞内でリアルタイムにモニターすることができる。

非典型プロテインキナーゼC(aPKC)アイソザイムは、 それらが脂質セカンドメッセンジャージアシルグリセ ロールによって調節されないという点でPKCスー パーファミリーにおいて独特であり、それにより異なるセ カンドメッセンジャーがそれらの機能を急激に制御する かについての推測が導かれた。本研究では、われわ れが設計した遺伝的にコードされるレポーターである aPKC特異的Cキナーゼ活性レポーター(aCKAR)を 用いて、脂質メディエータースフィンゴシン1-リン酸 (S1P)がaPKCの細胞内活性を促進することを見出 した。細胞内S1Pは、aPKCの精製されたキナーゼ ドメインに直接結合し、自己阻害制約を緩和し、それ によりキナーゼを活性化した。コンピューターによる解 析では、キナーゼドメイン上の潜在的な結合部位が 同定され、そのうちのひとつは生化学的に確証され た。HeLa細胞において、aPKCのS1P依存的活性 化はアポトーシスを抑制した。合わせると、われわれの 発見は、aPKC調節のこれまでに記述されていない 分子機構、細胞生存調節におけるS1Pの分子標的 とaPKCの生化学的および生物学的機能をさらに探 索するツールを同定する。

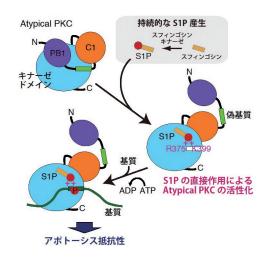


図2:アポトーシス抵抗性獲得におけるS1P-Atypical PKCシグナリング

がん細胞のようなS1Pの産生が恒常的に高まっている細胞では、高濃度のS1Pが Atypical PKCのArg375(R375)およびLys399(K399)に直接作用することで Atypical PKCを持続的に活性化させ、その結果としてこの細胞はアポトーシス抵抗 性を獲得する。

プロテインキナーゼCシグナリングの新たな展開

プロテインキナーゼC (PKC) は、1970年代後半に西塚泰美博士と共同研究者により発見されたセリン/スレオニンリン酸化酵素であり、これまでの40年余りの長いPKC研究の歴史の中でその活性化調節機構や生理機能および疾患との関連の詳細が明らかにされ、細胞内シグナル伝達における司令塔としての役割を担うことが広く知られています。PKC は9種類の遺伝子にコードされており、活性化におけるコファクターによってConventional、Novel、Atypicalの3つのファミリーに分類されています。Conventional PKCアイソザイム(α , β , γ)はジアシルグリセロール (DG)とカルシウムによって活性化され、またNovel PKCアイソザイム(δ , ϵ , θ , η)はDGによって活性化されますが、Atypical PKCアイソザイム(ζ , ι)は明確なコファクターを持ちません。PKC研究の歴史は長いですが、その活性化調節機構や生理的意義について未解明な部分も多く、未だPKCシグナリングを自在にコントロールできるまでには至っていません。そこでわれわれは、3つのファミリーの中でも特にミステリアスな Atypical PKCアイソザイム(ζ , ι)に着目し、新たな活性化制御機構および生理機能との関連の発掘を目指しました。

今回われわれは、Atypical PKCアイソザイム(ζ, 1)の活性化動態を生細胞内でリアルタイムに可視化する技術とin silicoドッキングシミュレーション技術を融合することにより、Atypical PKCアイソザイム(ζ, 1)の新たなコファクターを発見し、さらにその生理機能との関係を明らかにすることに成功しました。具体的には、まず蛍光共鳴エネルギー移動(Fluorescence Resonance Energy Transfer: FRET)の原理を用いた Atypical PKC特異的Cキナーゼ活性レポーター(atypical PKC-specific C Kinase Activity Reporter: aCKAR)を開発し、このaCKARを用いて細胞内でのAtypical PKC活性化のコファクターを探索したところ、細胞内シグナル伝達における重要な脂質メディエーターであるスフィンゴシン1-リン酸(Sphingosine 1-phosphate: S1P)を同定しました。次に、Atypical PKCとS1Pとのin silico誘導適合ドッキングシミュレーション解析により、Atypical PKCの立体構造上におけるS1Pの相互作用部位および相互作用に重要なアミノ酸(Arg375、Lys399)を予測しました。さらにin silico解析の予測結果をもとにaCKARイメージングによる細胞レベルへのフィードバック解析を行った結果、生細胞内でのS1PによるAtypical PKCの活性化にArg375およびLys399との相互作用が必須であることが明らかになりました。またさらに今回明らかにした新たなPKCシグナリングであるS1P-Atypical PKCシグナリング機構がどのような生理機能に関与するかを探索したところ、S1PによるArg375およびLys399を介するAtypical PKCの活性化が、細胞のアポトーシスにプレーキをかける役割(アポトーシス抵抗性)を果たすことが分かりました。

これまでの報告により、がん細胞ではS1Pの産生が亢進しており細胞内S1P量が増加していることが知られています。本研究の結果から、S1P-Atypical PKCシグナリングの恒常的な活性化が、がん細胞の特性のひとつである「アポトーシスを回避する能力」の獲得に関与することが示唆されます。本研究成果のポイントのひとつは、S1PとAtypical PKCの相互作用情報を分子構造レベルで取得し、さらに生細胞レベルにフィードバックしたことです。今後は、S1P-Atypical PKC相互作用の分子構造情報をもとに、がん細胞などのアポトーシスのブレーキ解除をターゲットとする新たな分子標的薬開発への発展が期待できます。

カリフォルニア大学サンディエゴ校 Newtonラボ

カリフォルニア大学サンディエゴ校のAlexandra Newton研究室は、研究室の発足から30年余り、Daniel Koshland Jr. 博士や西塚泰美博士の精神のもと、一貫してPKCを中心とするリン酸化シグナリングに関する研究を行っています。最近では特にPKCシグナリングとそれを調節する脱リン酸化酵素PHLPPシグナリングを中心に、リン酸化シグナリングのがんや神経変性疾患などへの臨床応用を目指した研究を進めています。



フィトスフィンゴシンとCD300bの相互作用が ザイモサンにより誘導される一酸化窒素依存性の 好中球動員を促進する

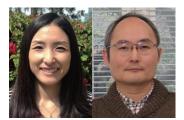
The phytosphingosine-CD300b interaction promotes zymosan-induced, nitric oxide-dependent neutrophil recruitment

伊沢 久未 1,2 浦井 誠 3 山西 吉典 1,4 前原 明絵 1,2 et al.

- 1 東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野/
- 幹細胞治療研究センター 幹細胞シグナル制御分野
- ² 順天堂大学大学院 医学研究科 アトピー疾患研究センター
- 全著者リスト: https://stke.sciencemag.org/content/12/564/eaar5514.full

3国立感染症研究所 真菌部

4 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 医歯学系専攻 生体環境応答学講座 免疫アレルギー学



左から高橋 まり子、北浦 次郎

北浦 次郎 Jiro Kitaura

現 順天堂大学大学院 医学研究科 アトピー疾患研究センター 先任准教授 旧 東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野/ 幹細胞治療研究センター 幹細胞シグナル制御分野 准教授

高橋 まり子 Mariko Takahashi

東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 細胞療法分野/ 幹細胞治療研究センター 幹細胞シグナル制御分野 博士研究員

Contact

北浦 次郎

E-mail: j-kitaura@juntendo.ac.jp

所在地:113-8421 東京都文京区本郷2丁目1番1号

URL: https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/atopy_center/

ザイモサンはグルカンを主成分とする酵母細胞壁抽出物である。今回われわれは、マウスにおいてザイモサンが好中球を 集積させる機序を明らかにした。 受容体である CD300b が欠損すると、 ザイモサンに応答して背部空気嚢に動員される好 中球は減少した。一方、そのような減少はToll様受容体4(TLR4)が認識する細菌膜成分であるリポ多糖(LPS)に対す る応答では認められなかった。ザイモサンで処理した野生型マウスの空気嚢に動員される好中球は一酸化窒素(NO)合 成阻害剤の投与によりCD300b欠損マウスの場合と同程度まで減少した。野生型マウスをクロドロネートリポソームで処理 するとCD300bを発現してNOを産生する炎症性樹状細胞(DC)が減少し、それによってNO産生と好中球動員が低下し た。同様に、CD300bが欠損すると、ザイモサンで処理した関節腔へのNO依存的な好中球動員が低下して関節炎が改 善した。 ザイモサンに含まれる脂質成分であるフィトスフィンゴシンが CD300b のリガンド候補として同定された。 フィトスフィン ゴシンはCD300b 依存的に炎症性 DCのNO 産生を誘導して好中球動員を促進した。以上の結果から、フィトスフィンゴシ ンとCD300bの相互作用が炎症性DCによるNO産生を誘導してザイモサンによる好中球集積を促進することが示され、 CD300bが抗真菌免疫に寄与する可能性が示唆された。

Figure and Note

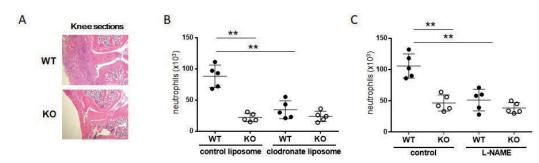


図1:CD300bはザイモサン投与による好中球集積を促進する

(A) CD300bを欠損するとザイモサン投与による関節腔への好中球集積は減少する。炎症性樹状細胞を除去するクロドロネートリポソーム

(B)やNO合成阻害剤(C)の前投与はCD300b依存的に好中球集積を抑える。

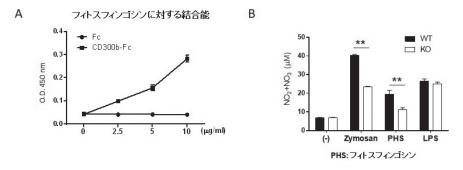


図2: 炎症性樹状細胞のCD300bはフィトスフィンゴシンに結合してNOを産生する

(A)CD300bの細胞外領域はフィトスフィンゴシンに結合する。

(B)炎症性樹状細胞のCD300bは(ザイモサンに含まれる)フィトスフィンゴシンに結合してNOを産生する。

真菌成分脂質を認識する免疫受容体CD300b

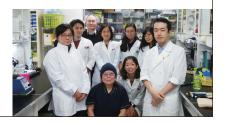
われわれはペア型免疫受容体CD300の機能解析を長年行ってきました。CD300は細胞外領域に相同性の高い一つの免疫グロブリン様ドメインをもち、活性化型と抑制型の受容体に分けられます。われわれは、抑制型受容体であるCD300fのリガンドとして脂質のセラミドを同定し、セラミドとCD300fの結合がIgEと抗原によるマスト細胞の活性化を抑制してアレルギー反応を抑えることを明らかにしました。他方、CD300bはDAP12と会合する活性化型受容体ですが、生理的な役割は十分に解明されていませんでした。われわれは、CD300b欠損マウスでは酵母細胞壁抽出物であるザイモサンに対する応答、特に局所への好中球集積が低下することを偶然見出しました。これまでの研究からCD300は特定の脂質を認識する受容体であると想定されたので、CD300bはザイモサンに含まれる何らかの脂質を認識して炎症を制御すると仮説を立て、その立証を試みました。

マウスの背部空気嚢に種々のTLRアゴニストを投与しても野生型およびCD300b 欠損マウスの応答に有意な差は認められませんでしたが、CD300b 欠損マウスではザイモサンを投与したときだけ局所のNO 産生量の低下とともに好中球集積の減少が認められました。NO 産生細胞としてCD300bを発現する炎症性樹状細胞が同定され、クロドロネートリポソームの投与により炎症性樹状細胞が除去されると野生型マウスの局所におけるNO 産生と好中球集積が減少しました。他方、ザイモサンに含まれる脂質に着目した結合およびレポーターアッセイから、CD300bのリガンド候補としてフィトスフィンゴシンが同定されました。重要なことに、フィトスフィンゴシンはCD300bに作用して炎症性樹状細胞のNO 産生や局所への好中球集積を誘導することが確認されました。したがって、炎症性樹状細胞のCD300bは酵母に含まれる脂質フィトスフィンゴシンを認識してNOを産生して好中球集積を促進することが明らかになりました。さらに、ザイモサン誘発関節炎モデルにおいても同様の機序で、CD300bが局所に好中球を集積させることが確認されました。これらの結果は、炎症性樹状細胞に発現するCD300bが真菌認識受容体のひとつとして重要な働きをする可能性を示唆しました。

真菌感染における局所への好中球集積は速やかな真菌排除に有益であると考えられます。したがって、CD300bを活性化する薬剤は真菌感染防御に有効である可能性があります。従来の抗真菌薬とは作用機序が異なるので併用療法も期待されます。一方、持続的な好中球集積は炎症を遷延化させるかもしれません。CD300bに依存する慢性炎症に対してはCD300bの機能を阻害する薬剤が有効かもしれません。いずれにせよ、CD300bの活性化に依存する病態を明確にした上で、CD300bを標的とする治療法開発が期待されます。

アレルギー・炎症の制御を目指す順天堂大学大学院 医学研究科 アトピー疾患研究センター

順天堂大学大学院 医学研究科 アトピー疾患研究センターはアレルギー疾患の克服を目標に掲げて設立されました。自由な発想のもとに遺伝子・分子・細胞・組織・生体レベルで研究を展開して、さまざまなアレルギー・炎症性疾患の病態解明と治療法開発を目指しています。ペア型免疫受容体 CD300の機能解析はそのひとつであり、アレルギー・炎症を正と負に制御するメカニズムを解明しています。当センターにはアレルギー・炎症制御学講座が併設されており、意欲的な大学院生を募集しています。いつでも気軽にご連絡ください。



転写抑制因子RESTは髄芽腫のマウスモデルにおいて、 Ptch1座位で系列・分化段階特異的なクロマチン凝縮を 引き起こし、AKT活性化を促進する

Transcriptional repressor REST drives lineage stage-specific chromatin compaction at Ptch1 and increases AKT activation in a mouse model of medulloblastoma

Tara H. W. Dobson Rong-Hua Tao Jyothishmathi Swaminathan Shavali Shaik Javiera Bravo-Alegria Ajay Sharma Bridget Kennis Yanwen Yang Keri Callegari Amanda R. Haltom Pete Taylor Soumen Khatua et al.

Department of Pediatrics, University of Texas, MD Anderson Cancer Center 全著者リスト: https://stke.sciencemag.org/content/12/565/eaan8680.full



左から前川 真治、Vidya Gopalakrishnan

前川 真治 Shinji Maegawa

Instructor, Department of Pediatrics, University of Texas, MD Anderson Cancer Center

Vidya Gopalakrishnan

Associate Professor, Department of Pediatrics, University of Texas, MD Anderson Cancer Center

Contact

前川 真治 E-mail: smaegawa@mdanderson.org

所在地: 1515 Holcombe Blvd. Houston, TX 77030, USA

髄芽腫では、ソニックヘッジホッグ(SHH)シグナル伝達経路の活性化を伴うSHH型腫瘍、なかでもSHH-αサブグループ(3 ~16歳の小児)とSHH-βサブグループ(乳幼児)の腫瘍において、転写抑制因子REST(RE1-silencing transcription factor)の活性化が認められる。SHH-β腫瘍のニューロンの成熟度はSHH-α腫瘍よりも高いが、いずれの患者も全生存率 は低い。われわれは、分化系列決定がされたPtch1^{+/-}小脳顆粒ニューロン前駆体(CGNP)においてNeuroD2が条件的に 調節するREST導入遺伝子を発現させることにより、腫瘍増殖が亢進し、浸透度と浸潤性が増加したトランスジェニックマウ スモデル(REST^{TG})を用いて、RESTの髄芽腫への寄与を検討した。このモデルにより、Ptch1の転写抑制因子RESTと活 性化因子 GLI1 の間に働く、ニューロンの成熟段階特異的な拮抗性相互作用が明らかとなった。βアレスチン1(GLI1 阻害 因子)をコードするArrb1の発現は、増殖性REST^{TG}細胞では野生型増殖性CGNPよりも大幅に低下しており、分化系列 決定済みのREST^{TG}細胞でも比較的差は小さいものの野生型増殖性CGNPよりも低下していた。分化系列決定済みの REST^{TG}細胞では、Ptch1座位におけるGLI1活性の低下とヒストンH3K9のメチル化の増加も認められ、これらはPtch1の 早期サイレンシングに関連した。また、分化系列決定済みのREST^{TG}細胞では、キナーゼAKTの負の制御因子をコードす るPtenの 発現も減少していた。SHH-β髄芽腫患者ではSHH-α髄芽腫患者に比べPTCH1とGLI1の 発現は低く、 ARRB1の発現はやや高かったが、PTENの発現は両サブタイプにおいて他のサブタイプの患者より同程度に低下してい た。REST高発現を呈する培養髄芽腫細胞では、ヒストン修飾因子を阻害すると増殖が低下し、AKTを阻害するとアポ トーシスが誘導された。RESTを髄芽腫組織における分化特異的クロマチンリモデリング、PTCH1サイレンシング、AKT活 性化に関連づけた今回の知見は、髄芽腫患者のサブグループに特異的な治療標的候補を明らかにするものである。

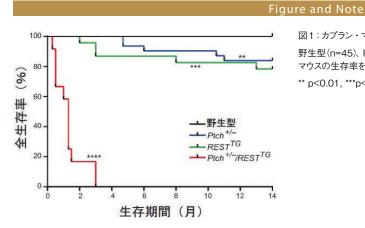


図1:カプラン・マイヤー法による生存率曲線

野生型(n=45)、REST^{TG}(n=23)、Ptch^{+/-}(n=31) およびPtch^{+/-}/REST^{TG}(n=13) マウスの生存率を示す。

** p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001.

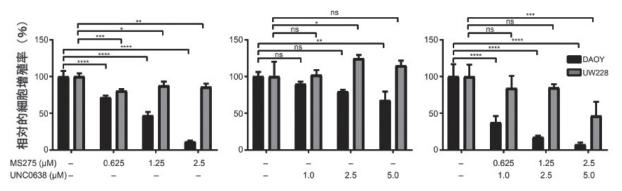


図2: HDAC 阻害剤・G9a 阻害剤処理の細胞増殖に及ぼす影響

SHH型腫瘍細胞株 DAOY および UW228 細胞株を HDAC 阻害剤MS275または / および G9a 阻害剤 UNC0638 で処理した 48 時間後の細胞増殖率を示す。ns; 非有意、*p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001.

モデルマウスを用いたSHH型髄芽腫の治療標的の同定

髄芽腫は主に小児の小脳に発生する悪性脳腫瘍です。これまでに分子的・臨床的特徴に基づき4つのサブグループに分類されており、サブグループ特異的な治療法の確立が求められています。転写抑制因子RESTは神経幹細胞や神経前駆細胞において自己複製の維持に関与する蛋白質で、神経分化に伴い発現が低下することが知られ、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)、ヒストンメチル化酵素(G9a)などのヒストン修飾因子やメチル化DNA結合蛋白質と協調し神経分化に関与する遺伝子の発現をエピジェネティックに制御しています。われわれはSHHサブグループの予後不良の腫瘍でRESTの発現が有意に高いことを見出しました。そこで、SHH型腫瘍発生におけるRESTの役割を詳細に検討すべく、ヒトRESTを条件的に過剰発現するモデルマウスの作成に着手しました。

作成したREST^{TG}マウス単独では腫瘍の発生を確認できませんでしたが、既存のSHH型髄芽腫モデルマウスPtch1へテロノックアウトマウス(Ptch^{+/-})と掛け合わることにより腫瘍を発生し、有意に短い生存期間を示しました(図1)。このPtch^{+/-}/REST^{TG}マウスに発生した腫瘍は軟髄膜への高い播種・浸潤性を呈し腫瘍細胞の増殖が誘導されました。また、REST 高発現の患者腫瘍を移植したマウスモデルおよびSHH型腫瘍由来ヒトDAOY細胞株にRESTを遺伝子導入した細胞を移植したマウスモデルにおいても同様の病態を観察しました。野生型またはREST^{TG}マウスより樹立したCGNPと、それらを分化誘導したCGNPを用いてRESTの機能解析を行ったところ、RESTの過剰発現によりエピジェネティックな変化を伴いクロマチン構造の凝縮が誘導され、REST^{TG}にて発現が増加したSHH下流標的遺伝子であるPtch1とGli1が、分化誘導細胞では発現が著しく低下していることを認めました。Ptch1プロモーター領域におけるPtch1活性化因子Gli1の活性は低下し、Gli1阻害因子であるArrb1は分化誘導により増加するものの、REST 依存的に発現が低下していました。また、RESTの高発現によりがん抑制遺伝子Ptenの発現が低下し、AKTの過剰活性化が生じていました。さらに、ヒト髄芽腫細胞株をHDAC阻害剤やG9a阻害剤で処理すると細胞増殖が低下し(図2)、AKT阻害剤処理によりアポトーシスを誘導することが可能でした。これらの結果はSHH型腫瘍の治療の可能性を示唆するものです。

本研究によりRESTの過剰発現が髄芽腫の悪性化に関与する機序の一端が明らかとなり、同定した幾つかの治療標的に対し培養細胞において薬剤の効果を示しました。今後、さらなる髄芽腫発症メカニズムの解明に挑み、SHH型腫瘍への臨床応用を見据えた研究を行いたいと考えています。また、RESTは虚血性脳卒中、自閉症、アルツハイマー病や老化にも関与することが報告されています。将来的にこれら疾患の発症メカニズムや老化への関与にも着目し研究を行う予定でいます。

Making Cancer History

テキサス州ヒューストンに位置するテキサス大学MDアンダーソンがんセンターは、1941年に設立された州立がん病院を礎とする施設で、世界最大級の医療コンプレックスであるテキサスメディカルセンターの中核をなす機関として知られています。がん撲滅をスローガンに、治療、教育、予防を含む包括的ながん患者医療サービスを提供すると同時に、多くのトランスレーショナルリサーチや挑戦的・先進的な基礎研究も活発に行われています。

写真: MD Anderson Cancer Center提供

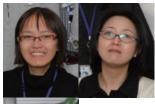


アダプタータンパク質 CIN85による T細胞の活性化および機能の抑制

Inhibition of T cell activation and function by the adaptor protein CIN85

川島 祐介 12 佐久間 待恵 3 横須賀 忠 31 米谷 耕平 41 大西 玲子 3.8 Nick Carpino 5 小原 收 12 黒崎 知博 46 Kia Kien Phua 7

- 1理化学研究所 生命医科学研究センター 統合ゲノミクス研究チーム
- かずさDNA研究所 技術開発部門
- 3 理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム
- 4理化学研究所 生命医科学研究センター 分化制御研究チーム
- ⁵ Department of Molecular Genetics and Microbiology, Stony Brook University
- 6大阪大学フロンティア免疫センター 分化制御研究室
- ⁷ Institute for Research in Molecular Medicine, Universiti Sains Malaysia
- † 現 東京医科大学 免疫学分野
- [‡] 現 京都大学iPS 細胞研究所 未来生命科学開拓部門
- § 現 サノフィ株式会社 研究開発部門



上左からMei Suen Kong、多根 彰子、 齊藤 隆

齊藤 隆 Takashi Saito

理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム チームリーダー 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター(IFReC)免疫シグナル 招へい教授

多根 彰子 Akiko Hashimoto-Tane

理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム 上級研究員

Mei Suen Kong

理化学研究所 生命医科学研究センター 免疫シグナル研究チーム Institute for Research in Molecular Medicine, Main Campus, Universiti Sains Malaysia (現 Microbiota Host Interactions, Nutrigenomics & Metabolism Laboratory, Lee Kong Chian School of Medicine, Nanyang Technological University)

Contact

齊藤 隆 E-mail: takashi.saito@riken.jp

所在地:230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-7-22

URL: https://www.riken.jp/research/labs/ims/cell_signal/index.html

T細胞の活性化は、T細胞受容体(TCR)の下流のアダプター分子などで形成されるシグナル複合体を介したシグナル伝達 から始まる。CIN85(85kDaのCbl相互作用タンパク質)は、そのようなアダプタータンパク質のひとつである。本稿で私たち は、TCR刺激に対するT細胞応答をCIN85が抑制することを明らかにした。活性化された野生型(WT)T細胞と比べ CIN85を欠損したT細胞は、より多くのIL-2を産生し、高い細胞増殖を示した。抗原で野生型T細胞を刺激すると、CIN85 はTCRシグナル伝達複合体に動員された。CIN85欠損T細胞では、ζ鎖会合プロテインキナーゼ70(Zap70)、76 kDaの Srcホモロジー 2(SH2)ドメイン含有白血球タンパク質(SLP76)、および細胞外シグナル制御キナーゼ(Erk)のリン酸化など 初期のTCRシグナル伝達のイベントが亢進していた。CIN85の抑制性機能には、アダプターのSH3およびPR領域が必要 であり、この領域と、TCR刺激後に脱リン酸化酵素Sts-2が会合することが判明した。まとめると、私たちの解析結果は、 CIN85は、T細胞活性化に伴って、TCRシグナル伝達複合体ミクロクラスターに動員され、Sts-2を動員してその会合を通じ てT細胞活性化の抑制を行っていることを示唆している。

Figure and Note

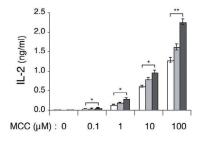
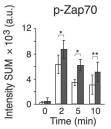
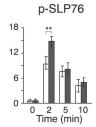
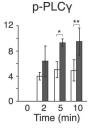


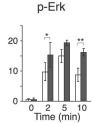
図1: CIN85 欠損 T細胞では活性化シグナルと機能が亢進

CIN85欠損(黒)と正常(白)T細胞をTCR刺激した際のサイトカインIL-2の産 生能(上図)、およびTCR下流シグナル分子のリン酸化(下図)を示す。CIN85 欠損T細胞は、サイトカイン産生や増殖も亢進し、Zap70より下流シグナル分子 のリン酸化が亢進したことから、CIN85はT細胞活性化を負に制御している。









抗原提示細胞

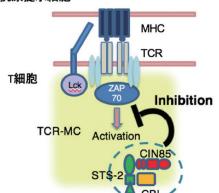


図2: CIN85 アダプタータンパク質を介した T 細胞活性化の抑制

CIN85は、T細胞活性化に伴ってTCRミクロクラスター(黄色)に集積し、脱リン酸化酵素 Sts-2 およびユビチンリガーゼ Cbl をリクルートして、T細胞活性化を抑制する。

CIN85-STS2を介するT細胞活性化の新たな抑制制御系の発見

T細胞は、生体防御を司る免疫システムの中心的な役割を担っています。T細胞は病原体や花粉など抗原を抗原 受容体(TCR)によって認識して、活性化します。活性化T細胞は、増殖すると共に、種々のサイトカインを産生する エフェクター T細胞に分化して、生体防御反応を司ります。T細胞活性化はTCRによる抗原認識シグナルによって 誘導され、その強さと質によって増殖や細胞分化の方向などの運命決定がなされます。活性化にともなって、TCR 複合体にアダプターやエフェクター分子が会合したシグナル複合体(ミクロクラスター)が形成されて活性化シグナルを 伝え、その時空間的な制御によって正に負に制御されます。特にアダプター分子は、このような正と負のシグナルの分岐点を形成して制御しています。

CIN85は多くの細胞に発現する、N末から3つのSH3領域、プロリンリッチ(PR)領域、セリンリッチ領域、そしてダイマー形成に重要なコイルドコイル領域からなるアダプター分子です。CIN85の機能は、非免疫細胞では細胞表面受容体の細胞内への取り込み・分解を誘導する役割を担い、受容体シグナルを負に制御することが報告されてきたのに対し、免疫系B細胞ではB細胞受容体からのNF-xB活性化へのシグナルを正に制御することが示されました。一方、CIN85とファミリーを形成するアダプター CD2APは、T細胞でTCR複合体の細胞内取り込み・分解に関与し、活性化を負に調節するとも報告されました。そこで、私たちは今回、T細胞活性化におけるCIN85、CD2APの機能を解明するために、T細胞特異的な欠損マウスを作製して解析を行いました。

CIN85 欠損T細胞を抗原/MHCまたは抗TCR抗体で刺激すると、サイトカインIL-2産生もT細胞の増殖も亢進し、CIN85 がT細胞活性化を負に制御していることが示唆されます。TCR下流シグナル分子の活性化を調べると、ZAP-70、SLP-76、PLCy、Erkなどのリン酸化が軒並み上昇していたが、CD3な、Lckのリン酸化は亢進しないことからZAP-70下流の活性化が抑制されていました。CIN85の種々の領域の欠損分子を用いて、この抑制活性にはCIN85のSH3とPR領域が重要であることがわかり、PR領域に会合する分子をマス解析して下流分子を同定しました。CIN85結合分子として既知のCbl、CapZ、CD2APの他に脱リン酸化酵素 Sts-2を同定しました。Sts-2はT細胞活性化に依存してCIN85と特異的に会合します。TCRシグナルクラスターのイメージング解析より、CIN85はCblと共にSts-2をミクロクラスターにリクルートして、活性化を抑制していることが判明しました。B細胞とCIN85はSts-2を引き寄せてT細胞活性化を抑制する、負の制御シグナルを誘導することが判明しました。この新たなCIN85-Sts-2機軸を標的に免疫賦活のための新規分子の開発に繋がる可能性もあります。

理化学研究所・生命医科学研究センター・ 免疫シグナル研究チーム

私たちは、免疫制御の中心的な担い手であるT細胞について、抗原認識、活性化シグナル伝達、エフェクター細胞機能分化などを解析しています。こうした免疫システムの制御機構を解明して、感染や腫瘍に対抗でき、アレルギーや自己免疫疾患を制御できる技術の開発を目指しています。 外敵を認識したT細胞受容体が、ミクロクラスターを形成して細胞活性化に至るシグナル伝達について、生化学的解析と共に、イメージング技術を用いて単一細胞の中で起こる時空間的な制御のダイナミズムを解析しています。



グルタチオンS-転移酵素は 脳炎症時に炎症誘発性の アストロサイト・ミクログリア間連絡を促進する

Glutathione S-transferases promote proinflammatory astrocyte-microglia communication during brain inflammation



左から加野 真一、澤 明

加野 真一 Shin-ichi Kano

Assistant Professor, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Johns Hopkins University School of Medicine (現 Associate Professor, Department of Psychiatry and Behavioral Neurobiology, The University of Alabama at Birmingham School of Medicine)

澤明 Akira Sawa

M.D., Johns Hopkins Medicine

全著者リスト: https://stke.sciencemag.org/content/12/569/eaar2124.full

Contact

加野 真一 E-mail: skano@uab.edu

所在地: 1720 2nd Ave South, SC 729, Birmingham, AL 35233, USA

URL: www.skano-lab.org

アストロサイトとミクログリアは脳の炎症に重要な役割を果たす。今 回われわれは、グルタチオンS-転移酵素(GST)、とくにGSTM1 が、脳炎症時に、アストロサイトにおける炎症性シグナル伝達を促 進し、アストロサイトを介するミクログリア活性化に寄与することを 報告する。In vivoでは、前頭前野のGSTM1のアストロサイト特 異的ノックダウンによって、リポ多糖(LPS)の全身注射により誘発 した脳炎症におけるミクログリア活性化が減弱した。アストロサイト のGSTM1のノックダウンによって、ミクログリアと共培養した際の、 ミクログリアによる炎症性サイトカイン腫瘍壊死因子-α(TNF-α)の LPS誘発性産生も減弱した。アストロサイトにおいてGSTM1は、 転写因子NF-κBの活性化と、顆粒球マクロファージコロニー刺 激因子(GM-CSF)やC-Cモチーフケモカインリガンド2(CCL2) (いずれもミクログリア活性化を増強する)などの炎症性メディエー ターの産生に必要であった。われわれの研究から、GSTは脳炎 症時に、アストロサイトを刺激し、アストロサイト・ミクログリアの正の フィードバックループによりミクログリア活性化を増強する、炎症誘 発性の役割を果たすことが示唆される。

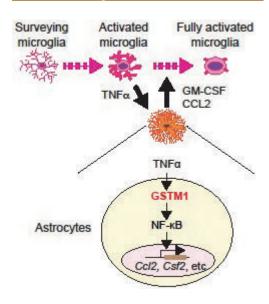


図: GSTM1 によるアストロサイトーミクログリアの炎症応答の制御 GSTM1 はアストロサイトに選択的に発現し、活性化ミクログリアか らのTNF-α刺激に応じてアストロサイトのNF-κB活性を増強する。 NF-κBの活性化は、CCL2やCSF2の産生を介して、ミクログリ アのさらなる活性化を引き起こす。

アストロサイトによるミクログリア活性化増強メカニズム

脳の炎症反応は、感染、外傷、自己免疫疾患、神経変性などの様々な原因によって惹起されます。こうした反応は 本来脳の恒常性を保つための反応と考えられますが、程度の激しい症状や慢性化した炎症は、結果として神経細 胞が機能変容や細胞死を引き起こし、脳に不可逆的な変化をもたらすことが知られています。したがって、脳の炎症 反応のメカニズムを理解しその制御方法を開発することは、多くの脳神経疾患の治療に役立つと期待されています。 脳の炎症反応においては、実質に存在するミクログリアが重要な役割を果たすと考えられていますが、ミクログリアは 他の多くの細胞、特にアストロサイトの活性化を修飾することで、神経の機能変容や細胞死に関わることがわかってき ました。一方、アストロサイトがミクログリアの機能にどのような影響を与えるのかについては十分に理解が進んでいま せんでした。

本研究では、アストロサイトに選択的に発現する分子であるグルタチオンS-転移酵素GSTM1ならびにGSTT2に注 目し、その発現を低下させたところ、リポ多糖全身投与による脳炎症反応においてミクログリアの活性化が低下するこ とを発見しました(図)。GSTM1の発現が低下したアストロサイトでは、ミクログリア由来の炎症性サイトカインに対する NF-xBの活性化が減弱し、ミクログリアの活性化を増強するケモカイン・サイトカインの発現が損なわれていました。 すなわち、GSTの機能低下により、アストロサイトを介したミクログリアの活性化増強メカニズムが失われることが明ら かになりました。

本研究で新たなアストロサイト活性化因子として明らかになったGST分子は、その遺伝子の欠損が多くの神経疾患 で報告されています。特に、アルツハイマー病などの神経変性疾患において、GST分子の機能変化が病態の進行 と関係するのではないかと考えられています。したがって、GST分子の機能変化によるミクログリアの活性低下がこう した神経疾患の病理にどのような影響を与えるのか、今後の研究の展開が期待されるところです。

脳の免疫学と疾患の統合的理解を目指して

神経疾患における炎症の関与は古くから知られていますが、「脳を守る」免疫学として体系 化されてきたのは最近のことです。現在では、さらに「脳を育てる | 免疫学として、生理的な 状況での免疫系と脳の相互作用が研究されるようになり、免疫系が脳の発達や機能維持 に果たす役割が解明されつつあります。アラバマ大学バーミンガム校(UAB)の加野研究 室では、脳の免疫学の統合的理解を通して、神経疾患や精神疾患の病態を解明し治療 につなげることを目指しています。



慢性的 TGF-β 曝露は EMT 安定化、 腫瘍幹細胞性、 抗がん剤耐性を 促進し、バイトピックなmTOR阻害に対して脆弱性を示す

Chronic TGF-\(\beta\) exposure drives stabilized EMT, tumor stemness, and cancer drug resistance with vulnerability to bitopic mTOR inhibition

Dominique Stephan Meyer¹ Ziyang Zhang² Kevan M. Shokat² Rosemary J. Akhurst^{1,3,4}

- ¹ Helen Diller Family Comprehensive Cancer Center, University of California at San Francisco
- ² Department of Cellular and Molecular Pharmacology and Howard Hughes Medical Institute, University of California at San Francisco
- ³ Eli and Edythe Broad Center of Regeneration Medicine and Stem Cell Research, University of California at San Francisco
- Department of Anatomy, University of California at San Francisco









Contact

上左から勝野 蓉子、宮園 浩平、 Rik Derynck

勝野 蓉子 Yoko Katsuno

Postdoctoral fellow, Department of Cell and Tissue Biology, University of California at San Francisco Eli and Edythe Broad Center of Regeneration Medicine and Stem Cell Research, University of California at San Francisco 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 助教

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

Rik Derynck

Professor, Department of Cell and Tissue Biology, University of California at San Francisco Eli and Edythe Broad Center of Regeneration Medicine and Stem Cell Research, University of California at San Francisco

Helen Diller Family Comprehensive Cancer Center, University of California at San Francisco Professor, Department of Anatomy, University of California at San Francisco

勝野 蓉子 E-mail: katsuno@m.u-tokyo.ac.jp

所在地:113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 東大本郷キャンパス 医学部教育研究棟 11 階

URL: http://beta-lab.umin.ac.jp 宮園 浩平 E-mail: miyazono@m.u-tokyo.ac.jp

腫瘍は間質微小環境内のがん幹細胞(CSC)とそれらの不均質な子孫の細胞から成る。トランスフォーミング増殖因子-B (TGF-β)に反応して、上皮細胞とがん細胞は部分的または完全な上皮間葉転換(EMT)を起こし、これががん進行の一 因となる。TGF-βの除去により細胞は上皮表現型に復帰するため、この過程は可逆的だと考えられている。しかしわれわ れは、短期曝露により誘導される可逆性EMTとは対照的に、in vivoでのがんの状態を模倣した長期TGF-β曝露により、 乳腺上皮および乳がん細胞において、EMTが安定化されることを見出した。安定化EMTは、幹細胞の産生と抗がん剤 耐性の増強を伴った。さらに、長期 TGF-β曝露により、哺乳類ラパマイシン標的タンパク質(mTOR)シグナル伝達が増強 された。バイトピックな(bitopic)mTOR 阻害剤により、CSC 発生、足場非依存性、細胞生存、抗がん剤耐性が抑えられ、 マウスにおける腫瘍形成が効率的に阻害された。これらの結果は、mTORが乳がん細胞の幹細胞性の安定化と薬剤耐 性に果たす役割と、CSCを標的とする治療戦略としてのmTOR阻害の重要性を明らかにしている。

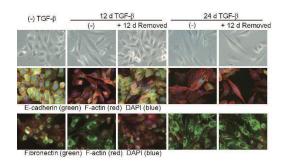


図1:長期間のTGF-β刺激によるEMTの安定化

短期間の TGF-β 刺激により可逆的 EMT が誘導され、 TGF-β 除去により細胞 は上皮系形質に戻った。一方長期間のTGF-β刺激によりEMTが安定化さ れ、TGF-β除去後も細胞は間葉系形質を保った。

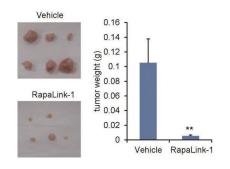


図2:新規mTOR阻害剤による腫瘍形成の抑制

TGF-βで長期刺激を行い安定化EMTを起こした乳がん細胞を乳腺に移植 したマウスに、新規mTOR阻害剤(RapaLink-1)を投与することにより、腫 瘍の形成が抑制された。

がんの進行におけるTGF-βとEMTの新たな役割

上皮細胞が細胞接着能を失い間葉系の性質を得るプロセスであるEMTはがん細胞の分化の可塑性に深く関わり、がん細胞の運動・浸潤を亢進させ、がん幹細胞の産生や抗がん剤耐性の獲得を促すことでがんの進行に重要な役割を持ちます。TGF-βは強力なEMT誘導因子であり、多くのがんで産生が亢進しており、TGF-βシグナルは、がんの微小環境からのシグナルの中でも特に重要な役割を持つと考えられます。TGF-βは、Smadを介した転写制御とSmadを介さないnon-Smad経路を活性化させてEMTを制御します。EMTは可逆的なプロセスであり、TGF-βによって誘導されたEMTは、細胞培養条件下ではTGF-βを除去することにより間葉系の性質が上皮系の性質に戻ることが知られています。しかし、TGF-βの産生が亢進している腫瘍においては、がん細胞は長期間継続的にTGF-βの刺激を受け続けていると考えられます。そこで、私たちは、細胞培養条件下で通常行われている短期間のTGF-β刺激による可逆的EMTと比較して、長期間の継続的なTGF-β刺激によりEMTの性質やがんの進行における役割が変化するのかを解析しました。

短期間のTGF-β刺激によって可逆的なEMTが誘導されるのと対照的に、長期間のTGF-β刺激により乳がん細胞の間葉系の形質が安定化され、EMTの安定化に伴い幹細胞様特性と抗がん剤耐性が強く亢進しました。可逆的EMTががんの転移を強く亢進させる一方、安定化EMTは転移には大きな影響を与えず、腫瘍の潜伏や持続を促進する可能性が明らかになりました。このことから、可逆的EMTと安定化EMTは、がんの進行において異なった役割を持つことが示唆されました。さらに、乳がん細胞を長期間TGF-β刺激することによりmTORC1とmTORC2のシグナルが活性化されました。安定化EMTに伴う幹細胞特性と抗がん剤耐性の亢進は、Smadシグナルの阻害によっては抑制されず、新規mTOR阻害剤により効果的に抑制されました。さらに、新規mTOR阻害剤の投与により、TGF-βで長期間刺激された乳がん細胞によるマウスでの腫瘍形成が抑制されました。

これらの結果は、腫瘍微小環境からのシグナルによってがん細胞の可塑性が多様に変化することを明らかにしました。特に、長期間のTGF-β刺激によって可逆的EMTから安定化EMTへと細胞の形質と可塑性が変化することを明らかにし、TGF-βに誘導されるEMTのがんの進行における新たな役割を明らかにするものです。さらに、安定化EMTに伴う幹細胞特性と抗がん剤耐性の亢進におけるmTORシグナルの重要性を明らかにし、mTORシグナル抑制の、乳がん幹細胞を標的とする治療戦略としての有用性を示唆する重要な研究成果であると言えます。

サンフランシスコでの研究生活

この研究は、勝野蓉子がUCSF(カリフォルニア大学 サンフランシスコ校)に滞在中にDerynck教授の下で始め、帰国後に東京大学とUCSFとの国際共同研究として継続・発展してきたものです。医学系に特化し、世界屈指の研究機関であるUCSFには多様なバックグラウンドと経験を持つ人材が集まり、協力的な文化の中で活発に共同研究が行われており、UCSF滞在中はその文化に大変助けられました。Derynck教授とは現在もTGF-8とEMTに関する共同研究を続けています。



IL-3刺激を受けたマウス好塩基球の IL-4産生におけるSTIM1ではなく STIM2の中心的役割

Pivotal role of STIM2, but not STIM1, in IL-4 production by IL-3-stimulated murine basophils

大洞 将嗣¹ 橋本 良太² 長尾 峻久³ Louis Peters³⁴ 江川 真由美³ 太田 卓哉³ 三宅 健介³ 安達 貴弘⁵ 河野 洋平³ 山西 吉典 3 烏山 一3

- 1順天堂大学 医学部 生化学第一講座
- 順天堂大学 医学部 生理学第二講座
- ³ 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 免疫アレルギー学分野
- ⁴ Faculty of Medicine, Imperial College London
- 5 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 難治病態研究部門 免疫疾患分野



吉川 宗一郎 Soichiro Yoshikawa

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 免疫アレルギー学分野 助教 (現 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞生理学分野 助教)

Contact

E-mail: yoshisou@okayama-u.ac.jp

所在地:700-8558 岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1

URL: https://okayama-u-physiol1.jp/

好塩基球は、さまざまな免疫応答において重要な役割を担っているが、これらの応答の多くは細胞内へのCa2+流入を伴う 好塩基球の活性化を必要とするものが多い。今回われわれは、間質相互作用分子1および2(STIM1およびSTIM2)とい う2つの Ca^{2+} センサーが、好塩基球活性化に果たす役割を検討した。STIM1が欠損すると、免疫グロブリンE(IgE)含有 免疫複合体による刺激後の好塩基球のIL4産生が低下するが、STIM2の欠損ではそのような低下はみられないことがわ かった。一方、好塩基球をIL-3で刺激した場合には、STIM2の欠損により好塩基球のIL-4産生が低下し、STIM1の欠 損ではそのような低下は認められなかった。STIMタンパク質のこの違いは、各刺激によって引き起こされるCa²⁺流入およ びII4遺伝子転写の時間経過の違いと関連していた。同様に、in vivoのIgE誘導型慢性アレルギー性炎症には好塩基 球特異的なSTIM1 発現が必要であった一方、マウスにIL-3とIL-33を併用投与後のIL4産生にはSTIM2が必要であっ た。これらのデータは、STIM1とSTIM2がIL4産生において刺激に依存した異なる役割を果たすことを示している。さら に、これらの結果は、STIM1より重要性が低いと考えられる場合が多いSTIM2が、好塩基球においてきわめて重要な役 割を果たすことを明らかにしている。

Figure and Note

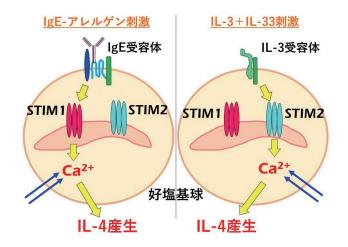


図:好塩基球におけるシグナルに応じたSTIM分子の使い分け

好塩基球における、刺激に応じたSTIM分子の使い分けの模式図を示 す。IgEとアレルゲンからなる複合体による刺激(左図)ではSTIM1が主 に活性化し、刺激後すぐにストア作動性カルシウム流入が引き起こされ る。一方、IL-3刺激(右図)においては主にSTIM2が活性化することで 細胞外からのカルシウム流入が生じるが、その流入量はSTIM1によって 起こるカルシウム流入より少なく、また流入し始める時間も非常に遅い。

これまでよくわかっていなかったSTIM2の役割を発見

アレルギーに関与することが知られている好塩基球は、アレルゲンなどに反応することで活性化し、様々な炎症性メディエーターやアレルギー誘導因子を放出します。これらの物質が皮膚や粘膜、呼吸器などに作用することで、かゆみやくしゃみ、喘息のような、各種アレルギー症状が現れるようになります。この活性化には、好塩基球の細胞質内へカルシウムが流入する必要があるのですが、この流入にどのような分子が関わっているのかは長らく不明であり、抗アレルギー薬開発のためにもメカニズムの解明が必要とされていました。

他の免疫細胞のカルシウム流入には、STIM1という分子が深く関わっていることが知られていました。一方で、同じ分子ファミリーであるSTIM2は、STIM1と構造的に似ているにもかかわらず、欠損していてもカルシウム流入が正常に起こるという報告や、むしろカルシウム流入を阻害しているという報告もあり、未だ機能がはっきりとしていませんでした。

本研究では、好塩基球特異的にSTIM1またはSTIM2を欠損するマウスをわれわれが独自に作製し、好塩基球におけるカルシウム流入に関わる分子の解明を行いました。その結果、好塩基球は刺激の種類に応じてSTIM1またはSTIM2の分子を使い分けており、これにより、カルシウム流入を引き起こしていることがわかりました。すなわち、アレルゲンとIgEで刺激したときはSTIM1が主体となって好塩基球のカルシウム流入に関わる一方で、IL-3やIL-33と呼ばれる炎症性サイトカインの一種で好塩基球を刺激した場合にはSTIM1よりもむしろSTIM2がカルシウム流入に必須であることが判明しました(図)。さらに、このSTIM1は刺激直後に一過性に起こる多量のカルシウム流入に強く関わり、STIM2は刺激して6時間以上後に起こるカルシウムイオンの流入に関与していることを発見しました。このカルシウム流入が引き金となり、アレルギー発症に深く関わるIL-4の産生が好塩基球から誘導されることもわかりました。

本研究成果により、好塩基球のカルシウム流入にはSTIM1、STIM2の両方が関わることが明らかになり、活性化の長さによってSTIM1もしくはSTIM2が使い分けられていることもわかりました。好塩基球のSTIM1やSTIM2を阻害する薬剤が開発できれば、効果的にアレルギーを抑制させることができると考えられるため、この分子をターゲットとした抗アレルギー薬の開発が進むと期待されます。

異分野との出会い

本研究を含め、好塩基球・B細胞関連研究を東京医科歯科大学 免疫アレルギー学分野の烏山一教授(現 特別栄誉教授)のご指導のもと、15年間行ってまいりました。2019年春からは、その知識と経験を生かし、岡山大学大学院 医学部細胞生理学(神谷厚範教授)にて、神経と免疫の相互関係を解明する研究を始めました。当研究室は、神経、がん、脳神経の専門家と多種多様な人材が揃っており、各専門家がさまざまな視点でディスカッションをしてくれるので、研究が大いに広がってとても楽しい研究環境になっており、次々と新しい発見が生まれております。今までにない神経免疫研究を進めてまいりますので、興味のある学生の方はぜひご連絡ください。

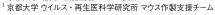


TRPM7チャネルにより媒介される成長板軟骨細胞における 自発的 Ca²⁺ 振動は骨発生を促進する

TRPM7 channels mediate spontaneous Ca²⁺ fluctuations in growth plate chondrocytes that promote bone development

武井 大祐 1 坂口 怜子 2 木谷 晃広 1 永岡 諒平 1 富澤 雅人 1 宮崎 侑 1 宮地 均 3 沼田 朋大 $^{4.5}$ 柿澤昌1 西美幸1,5 森泰生5 竹島浩1

- 京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野
- 福岡大学 医学部 生理学教室
- 京都大学 物質 細胞統合システム拠点
- 5 京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻 分子生物化学分野





左から市村 敦彦、銭 年超

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 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

銭 年超 Nianchao Qian

京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野 特定研究員

Contact

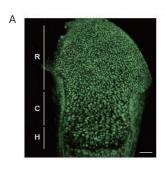
市村 敦彦 E-mail: ichimura.atsuhiko.2r@kyoto-u.ac.jp

所在地:606-8501 京都府京都市左京区吉田下阿達町46-29

URL: https://ats-ichimura.jp

長骨の軟骨内骨化時、増殖し分化した軟骨細胞は層状構造を成す骨端成長板を形成する。成長板軟骨細胞は軟骨マト リックスを分泌し、続いてそれが海綿骨に変換される。Ca²⁺シグナル伝達が軟骨形成に関与していることはin vitroで示さ れていた。今回われわれは、マウス胚由来の骨スライスの蛍光イメージングを用いることにより、生きた成長板軟骨細胞が弱 く断続的なCa²⁺流入を伴う自律的かつ小規模な細胞内Ca²⁺変動を生成することを見出した。Ca²⁺透過性チャネルをコード するいくつかの遺伝子が成長板軟骨細胞において発現していたが、一過性受容体電位カチオンチャネルサブファミリー M メンバー 7(TRPM7) の薬理学的阻害剤のみが自発的 Ca^{2+} 変動を減少させた。 TRPM7を介した Ca^{2+} 流入は、ホスホリ パーゼCの定常的な活性の下流で活性化され、大コンダクタンスCa2+依存性K+チャネルにより誘導される細胞過分極によ り増強されると考えられた。Trpm7コンディショナルノックアウトマウス胚からex vivo培養された器官培養軟骨は成長の減 弱を示すとともに、成長板軟骨におけるCa²⁺カルモジュリン依存性キナーゼ(CaMK)IIの不十分な自己リン酸化を伴う組織 学的異常を呈した。軟骨細胞特異的 Trbm7欠損マウスを用いた実験により、TRPM7媒介 Ca2+変動とCaMKII 依存性 軟骨形成との関連がさらに支持された。これらの結果から、成長板軟骨細胞は自発的かつTRPM7により媒介される細胞 内Ca²⁺変動を発生させることによって、自己成熟および骨発生を促進していると考えられる。

Figure and Note



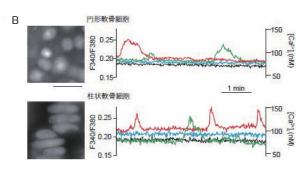
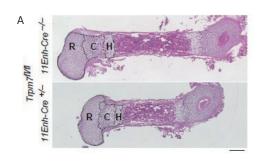


図1:成長板軟骨細胞における細胞内 Ca²⁺の自発変動

A. 胎齢 17.5日マウスから単離しFluo-4をロードした大腿骨成長板軟骨スライスの代表的な蛍光画像。 円形(R)、柱状(C)、 および肥大(H)軟骨細胞の層が示されている。Scale bar, 100μm.

B.定常状態における円形および柱状軟骨細胞のFura-2を用いたCa²⁺イメージング。測定に用いた細胞の代表的な蛍光画 像と、 Ca^{2+} 変動陽性細胞(赤と緑のトレース)および Ca^{2+} 変動陰性細胞(青と黒のトレース)に由来するFura-2を用いた2波 長測定の蛍光強度比の経時変化が示されている。Scale bar, 20µm.



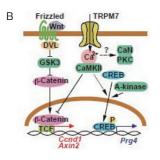


図2:軟骨細胞特異的Trpm7欠損マウスにおける骨伸長障害

A. 軟骨細胞特異的 Trpm7欠損マウス $Trpm7^{t/t''}$ (11 Enh- $Cre^{-/-}$) 胎齢 17.5日胎児由来大腿骨標本の中央縦断面。円形(R)、柱状(C)、および肥大(H) 軟骨細胞の層が示されている。Scale bar, 1mm.

B. 複数の解析結果を統合した結果予想された、軟骨細胞におけるTRPM7を介した Ca^{2+} 流入と、その下流の細胞内シグナル伝達の模式図。TRPM7を介して流入した Ca^{2+} が細胞内においてCaMKIIの自己リン酸化を促すことによりシグナル下流の遺伝子発現が変化し、正常な軟骨内骨化へ寄与していると考えられる。

骨伸長に必要な軟骨細胞内Ca²⁺動態と制御分子機構を解明

細胞内 Ca^{2+} は必須のシグナル分子であり、受精、筋収縮、神経伝達物質やホルモン分泌などの重要な生命現象はすべて細胞内 Ca^{2+} の濃度変化によって緻密に制御されていることが知られています。一方で、細胞内 Ca^{2+} の制御分子機構や生理的役割が未解明の細胞も数多く残されています。本研究で私たちは軟骨細胞に注目しました。軟骨細胞は、軟骨組織を構成する唯一の細胞です。軟骨組織は胎生期から発達の時期において、成長板軟骨として骨の長軸方向への伸長を担うとともに、発生後は関節軟骨として関節における摩擦を軽減するために働くユニークな組織です。私たちは、生理的な軟骨細胞における細胞内 Ca^{2+} の動態や生理的な役割が未解明であることに気付きました。これは、立体的な軟骨組織をin vitroで再構成することが困難という実験技術的制限が原因と考えられました。そこで、マウス胎児大腿骨骨端の成長板軟骨に存在する軟骨細胞を観察可能にする手法を新たに樹立しました。すなわち、新生直前(胎生17.5日齢)のマウスから大腿骨を単離後、およそ 60μ mに薄切したスライス培養試料を作製し、細胞内 Ca^{2+} イメージングを行いました。本実験系を用いることで、生理的条件における軟骨細胞内 Ca^{2+} 動態と制御分子機構の解明を試みました。

その結果、軟骨細胞内 Ca^{2+} 濃度が自発的に上昇と下降を不規則に繰り返しているという新たな現象を見出しました(図1)。そこでこの現象を自発的 Ca^{2+} 変動と名付け、さらに分子メカニズムや生理機能の解明を目指しました。複数の阻害薬を用いた薬理学的スクリーニングとマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、自発的 Ca^{2+} 変動に関与していそうな遺伝子を探索した結果、自発的 Ca^{2+} 変動の制御分子候補として、細胞表層膜に分布する陽イオンチャネルTRPM7を見出しました。自発的 Ca^{2+} 変動はTRPM7の阻害薬処置や遺伝子ノックダウンにより阻害され、TRPM7活性化薬処置により増強されました。一連の解析から、TRPM7を介して細胞内に流入してくる Ca^{2+} が自発的 Ca^{2+} 変動を引き起こしていると結論しました。さらに、Trpm7遺伝子欠損器官培養軟骨および、軟骨細胞特異的Trpm7欠損マウスのいずれにおいても、骨伸長が著しく減弱しました(図2A)。また、Trpm7遺伝子欠損により自発的 Ca^{2+} 変動が抑制されるとともに、 Ca^{2+} カルモジュリン依存性キナーゼ(CaMK) II の自己リン酸化が抑制され、軟骨細胞の正常な分化成熟が阻害されることがわかりました。一連の解析から、軟骨において細胞内 Ca^{2+} が果たしている生理的な役割やその分子メカニズムの一端を解明しました(図2B)。

今回の研究結果から、軟骨細胞内Ca²⁺制御分子機構が軟骨の正常な分化成熟と軟骨内骨化に必須であることが明らかとなりました。この分子機構をなんらかの刺激によって活性化することができれば、骨伸長を促進できる可能性があります。今後は、さらなる基礎研究による詳細な分子機構の解明を目指しつつ、整形外科や内科等の臨床医師らとの共同研究により医薬応用を推進していく予定です。

外部環境に応答する分子機構の解明と制御を目指して

細胞や生体が外部環境に応答しながら正常な機能を維持する分子機構はそのほとんどがまだ解明されていません。また、疾患はこれらの機構が破綻することで引き起こされた状態と解釈することができます。私たちは、外部環境に応答する分子機構を細胞・個体レベルで解明する基礎研究を行うとともに、医師や民間企業研究者と共同研究を展開することで新たな治療薬の創出につなげたいと考えています。

細胞は細胞膜によって内と外に隔てられており、物理的刺激や化学的刺激、熱、栄養状態やホルモンなど細胞外からの刺激に応答して様々な変化が引き起こされます。また個体レベルでも、外部の環境変化に応答し生体内ホメオスタシスを維持する分子機構が機能しています。そして、これらの破綻により様々な疾患が引き起こされると考えられます。当研究グループでは小胞体膜イオンチャネルや細胞膜受容体などに注目し、細胞や個体が環境に応答する分子機構を解明するとともに、その破綻によって引き起こされる疾患の治療に資する知見の取得を目指しています。

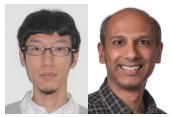


CRACチャネルはアストロサイトの Ca²⁺シグナル伝達とグリオトランスミッター放出を 制御して海馬のGABA作動性伝達を調節する

CRAC channels regulate astrocyte Ca²⁺ signaling and gliotransmitter release to modulate hippocampal GABAergic transmission

Anna B. Toth¹ Michaela M. Novakovic¹ Natalie G. Bernstein¹ Laurie Lambot²

- ¹ Department of Pharmacology, Northwestern University Feinberg School of Medicine
- ² Department of Physiology, Northwestern University Feinberg School of Medicine



左から堀 耕太郎、Murali Prakriya

堀 耕太郎 Kotaro Hori

Postdoctral fellow, Department of Pharmacology, Northwestern University Feinberg School of Medicine (現 大阪市立大学大学院 医学研究科 麻酔科学講座 講師)

Murali Prakriya

Professor, Department of Pharmacology, Northwestern University Feinberg School of Medicine

Contact

堀 耕太郎 E-mail: k.hori@med.osaka-cu.ac.jp

所在地:545-8586 大阪府大阪市阿倍野区旭町1-5-7

URL: http://ocu-anesth.ip/

アストロサイトは脳内グリア細胞の主要なサブタイプであり、Ca²⁺によって 制御されるシグナル伝達機構を介して、代謝の補助からグリオトランス ミッターの放出まで数多くの機能を調節する。しかし強い関心が集まって いるにもかかわらず、アストロサイトのCa²⁺流入経路は未だ明らかになっ ていないため、Ca²⁺シグナル伝達がどのようにアストロサイトの下流のエ フェクター機能と連携しているかについてのメカニズム解明の妨げに なっている。今回われわれは、Orail およびSTIM1にコードされている ストア作動性Ca²⁺放出活性化Ca²⁺(CRAC)チャネルが、アストロサイト における代謝調節型プリン作動性受容体やプロテアーゼ活性化受容体 の刺激により発生する持続性のCa²⁺振動シグナルを引き起こす主要な Ca²⁺流入経路であることを発見した。光学的レポーターとしてシナプトフ ルオリン(synapto pHluorin)を用いることで、アストロサイトのCRAC チャネルの開孔が小胞のエキソサイトーシスを刺激してATPなどのグリ オトランスミッターの放出を調節することを明らかにした。さらに、スライス を用いた電気生理学的記録によって、プロテアーゼ活性化受容体によ るアストロサイトの活性化が海馬CA1の介在ニューロンを刺激すること でCA1錐体細胞の抑制性シナプス後電流を増加させることを明らかに した。これらの結果により、CRACチャネルがアストロサイトのCa²⁺シグナ ル伝達、グリオトランスミッター放出、そしてアストロサイトを介したCA1錐 体ニューロンの持続性抑制の調節因子として中心的役割を果たしてい ることが明らかになった。

Figure and Note

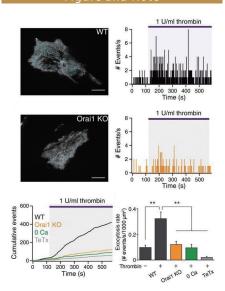


図1:トロンビン誘発性のエキソサイトーシスはOrai1ノック アウトアストロサイトではみられない

プロテアーゼ活性化受容体刺激薬トロンビン潅流により誘 発されるエキソサイトーシスをシナプトフルオリンでモニタリン グすると、野生型とOrai1ノックアウトアストロサイトで有意 な差がみられた。

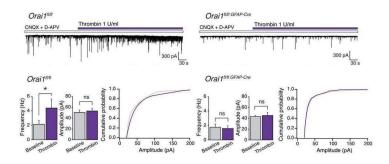


図2: アストロサイトOrai1 チャネルはCA1 錐体細胞へのGABA 作動性入力を制御する

アストロサイト特異的ノックアウトマウスでは海馬スライスでのトロンビン潅流刺激により、野生型ではみられたCA1錐体細胞での抑制性シナプス後電流の頻度上昇がみられなかった。

CRACチャネルを介した Ca²⁺シグナル伝達のアストロサイトでの役割

カルシウムはセカンドメッセンジャーとしてよく知られますが、CRACチャネル(Ca²+放出活性化Ca²+チャネル)はそのCa²+シグナル伝達を形成する主要な経路のひとつで、生体の細胞に幅広く分布し遺伝子発現や臓器発生等、様々な働きに影響を及ぼしているイオンチャネルです。Oraiというチャネルポア蛋白とSTIMという小胞体内のカルシウムセンサーから構成され、小胞体内のカルシウムが枯渇した際にSTIMがOraiを活性化し、カルシウムを細胞外から細胞内へ流入させます(ストア作動性Ca²+流入)。このチャネルは脳内でも様々な細胞で発現していることが知られており、その中にグリア細胞のひとつであるアストロサイトも含まれます。近年、アストロサイトはグリオトランスミッターと呼ばれる伝達物質の放出により神経細胞の働きを調節しているという報告が相次ぎ、それにアストロサイトでのCa²+シグナルが非常に重要な役割を果たしていることが示唆されていました。そこで今回、私たちはアストロサイトのCa²+シグナルとグリオトランスミッター放出におけるCRACチャネルの役割をアストロサイトのOrail、STIM1をノックアウトしたマウスから海馬の初代培養細胞や脳スライス標本を作成して検討しました。

初代アストロサイト培養細胞ではプリン受容体刺激薬のATPやUTP、プロテアーゼ活性化受容体刺激薬のトロンビンの潅流によりCRACチャネルを介したカルシウム流入がみられましたが、Orail もしくはSTIM1がノックアウトされた細胞ではそれが大きく阻害されており、それに加えてOrail ノックアウトアストロサイトではエキソサイトーシスやATP放出も減少していました。さらに、海馬スライスパッチクランプ記録ではOrail ノックアウトマウスで介在ニューロンの興奮反応が抑制されていることがわかり、これらの結果からCRACチャネルはアストロサイトのグリオトランスミッター放出を介して海馬の神経伝達をコントロールしている可能性が示唆されました。

CRACチャネルの脳での働きは未だよくわかっていない点が多いですが、今回の研究から海馬アストロサイトCRAC チャネルの刺激により神経興奮を抑制できる可能性があり、それにより生理的な神経伝達の調節に加えて、てんかん や脳梗塞後の組織修復といった病的な状態へのアプローチにも繋げられることが期待されます。

CRACチャネルの生体内での機能について

CRAC チャネルの分子メカニズムに関する研究は近年飛躍的に進展していますが、その生体内での機能に関しては未だわかっていない点も多いのが現状です。最も研究されている分野のひとつとして免疫機能が挙げられますが、その他にも今回の研究のような脳機能等、いくつかその重要な役割が指摘されています。今回はアメリカのノースウェスタン大学 Prakriya lab 留学中(写真)の研究結果でしたが、現在は大阪市立大学大学院 医学研究科 麻酔科学に場所を移して引き続き CRAC チャネル機能の研究を行っています。



副腎ステロイド、プロゲステロンおよび スピロノラクトンによるゾウギンザメの ミネラルコルチコイド受容体の転写活性化

Transcriptional activation of elephant shark mineralocorticoid receptor by corticosteroids, progesterone, and spironolactone

河野 郷通 1 岡 香織 2 Xiaozhi Lin 2 小竹 純可 2 Nisha E. Pillai 3 高木 亙 4 兵藤 晋 4 Byrappa Venkatesh 3 Michael E. Baker 5

- ¹ Department of Biology, St. Cloud State University
- 北海道大学大学院 生命科学院
- Comparative Genomics Laboratory, Institute of Molecular and Cell Biology, Agency for Science, Technology and Research (A*STAR)
- 東京大学 大気海洋研究所 生理学分野
- ⁵ Division of Nephrology, Department of Medicine, University of California, San Diego



義直 Yoshinao Katsu

北海道大学大学院 理学研究院 生物科学部門 生殖発生生物学分野 教授 北海道大学大学院 生命科学院 教授

Contact

E-mail: ykatsu@sci.hokudai.ac.jp

所在地:060-0810 北海道札幌市北区北10条西8丁目 URL: https://www.repdev-katsu.jp/index.html

ミネラルコルチコイド受容体(MR)は核内受容体の1種であり、グ ルココルチコイド、プロゲステロン、アンドロゲンおよびエストロゲン に対する受容体をも含む、広範で多様な転写因子ファミリーのメ ンバーである。ヒトおよびその他の陸生脊椎動物では、副腎ステ ロイドであるアルドステロンがMRの生理的活性化因子である が、現存する有顎脊椎動物の最古の群である軟骨魚類におい ては、その活性化因子は不明である。本稿でわれわれは、ゾウ ギンザメ(Callorhinchus milii)の完全長MRに対する副腎ステ ロイドおよびプロゲステロンの活性化能を分析した。測定された 活性に基づくと、アルドステロン、コルチゾール、11-デオキシコル チコステロン、コルチコステロン、11-デオキシコルチゾール、プロ ゲステロンおよび19-ノルプロゲステロンは、生理的なミネラルコル チコイド候補である。しかし、ヒトおよびその他の陸生脊椎動物 における生理的ミネラルコルチコイドであるアルドステロンは、軟骨 魚類および条鰭類では確認されなかった。プロゲステロンは条 鰭類のMRを活性化するが、ヒト、両生類または爬虫類のMR は活性化せず、このことは、陸生脊椎動物への移行期において プロゲステロンはMRを活性化する能力を喪失したことを示唆し ていた。ゾウギンザメのMRとヒトのMRはいずれも脳、心臓、 卵巣、精巣およびその他の非上皮性組織において発現してお り、このことは、多様な組織におけるMR発現が、有顎脊椎動物 の共通の祖先において進化したことを示唆していた。われわれ のデータは、19-ノルプロゲステロンおよびプロゲステロンにより活 性化されるMRには、生殖生理において正しく評価されていな かった機能がある可能性を示唆している。

Figure and Note



図:ゾウギンザメ

ゾウギンザメは軟骨魚綱全頭亜綱に属する。2014年にゲノム情報 が発表され、既知の脊椎動物の中でゲノムの進化速度が遅いこと が判明している(写真:共同研究者である東京大学 大気海洋研究 所の兵藤教授から提供)。

ミネラルコルチコイド受容体の分子進化の鍵を握るゾウギンザメ

1987年にヒトのミネラルコルチコイド受容体のcDNAが単離されて30年がたちます。これまでに様々な動物からミネラルコルチコイド受容体のcDNAが単離され、ステロイドによる転写活性や発現解析などが行われてきました。一方で、受容体のリガンドに関する研究も進められ、ヒトではアルドステロンが生体内リガンドであり体内の血圧を上昇させる作用をもつことなどがわかってきました。そのため、ミネラルコルチコイド受容体に対して拮抗的に作用する薬が開発され、治療現場で使用されるようになっています。このようにミネラルコルチコイド受容体は、アルドステロンを介した生理的な恒常性維持に関与すると考えられていますが、生物の進化の過程における生理的機能の獲得に関する知見は乏しいのが現状です。

私たちの研究グループは、様々な動物種からステロイドホルモン受容体の単離を行い、ホルモン応答性などを調べることによって受容体の分子進化の解明を目指しています。今回私たちは、カリフォルニア大学のMichael E. Baker 教授、東京大学大気海洋研究所の兵藤 晋教授、高木 互助教らと共同で、古代から生息する軟骨魚類であるゾウギンザメに焦点をあて、ゾウギンザメから、ミネラルコルチコイド受容体を単離しホルモン応答性を詳細に調べました。その結果、ホルモンとの結合には関係しないと考えられているN末側のA/B領域が受容体のホルモン応答性に影響を与えること、また、黄体ホルモンであるプロゲステロンによって、ゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体が活性化されることを見出しました。この成果は、私たちのグループが2018年にScience Signalingに発表した魚類のゼブラフィッシュのミネラルコルチコイド受容体におけるプロゲステロンによる転写の活性化と同じ応答です。さらに、RNAの発現解析を行ったところ、生殖器官である卵巣や精巣での高い発現量が観察されました。この成果とゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体がプロゲステロンに反応することを合わせて考えると、ミネラルコルチコイド受容体は、本来はプロゲステロンを生体内リガンドとして活用している可能性があること、さらに生殖器官でのまだ明らかにされていない機能をもつことが示唆されました。

これまでの報告から、軟骨魚類の進化段階でミネラルコルチコイド受容体遺伝子ができあがったと考えられています。よって、軟骨魚類の受容体を詳しく調べることはミネラルコルチコイド受容体の分子進化の全貌の解明につながることが期待されます。といではミネラルコルチコイド受容体の生体内リガンドはアルドステロンというステロイドホルモンであることが判明しており、腎臓でナトリウムイオンや水の再吸収に関与し、生体内の恒常性維持に寄与しています。一方で、ゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体は、アルドステロンに対して高い親和性をもっていますが、軟骨魚類では生体内でアルドステロンは生合成されていません。それでは軟骨魚類における生体内リガンドは何なのでしょうか。そして、脊椎動物の進化過程でミネラルコルチコイド受容体遺伝子が出現した当初のリガンドは何だったのでしょうか。また、軟骨魚類におけるミネラルコルチコイド受容体の機能は人間と同じなのでしょうか。解き明かされていない大きな謎です。今回の成果から、私たちはミネラルコルチコイド受容体遺伝子が出現した時点での生体内リガンドは黄体ホルモンであるプロゲステロンだったのではないかと考えています。そして、生殖器官でのミネラルコルチコイド受容体の発現が高いという事実は、古代だけではなく、現存する脊椎動物において生殖器官における未だ知られていないミネラルコルチコイド受容体の役割を想像させるものです。今後さらなる研究を進めていく必要があります。また、ヒト以外の動物の研究から得られる成果は、これまで知られていないヒトでの機能の解明や、関連するヒトの内分泌疾患の新たな治療薬の創出にも貢献できると期待しています。

北の大地で内分泌制御機構の解明を目指す

今回の論文は、カルフォルニア大学のBaker教授、東京大学の兵藤教授および高木助教など多くの共同研究者に支えられて発表することができました。謹んで御礼申し上げます。私たちの研究グループは、北海道大学 理学部内にあり、理学部生物科学科(生物学)の4年生、生命科学院 生命システム科学コースの大学院生が所属しています。ステロイドホルモンによる動物の内分泌制御システムが動物の進化の過程でどのように成立してきたのでしょうか? ステロイドホルモン受容体の分子進化の研究を通して、その全体像の解明を目指しています。また、基礎研究だけではなくヒトの内分泌疾患の治療への応用を目指した取り組みも進めています。興味を持ってくださった方は、ぜひご連絡ください。



低用量メチル水銀曝露により誘発される Drp1の脱イオウ化は血行力学的負荷に対する 心臓の脆弱性を増加させる

Depolysulfidation of Drp1 induced by low-dose methylmercury exposure increases cardiac vulnerability to hemodynamic overload

下田 翔 1,2,3 田中 智弘 1,2 外山 喬士 2 西山 和宏 4 新開 泰弘 5 冨田 拓郎 1,2,3 山崎 大樹 6 諫田 泰成 6 赤池 孝章 7 熊谷 嘉人 5

- 1 自然科学研究機構 生命創成探究センター 2 自然科学研究機構 生理学研究所 5 第24 世界 医学医療系 6 国立医療 日命と歴史の 第39 3 総合研究大学院大学 4 九州大学大学院 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室
- 5 筑波大学 医学医療系





左から西村 明幸、西田 基宏

西村 明幸 Akiyuki Nishimura

九州大学大学院 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室 講師

自然科学研究機構(NINS)生命創成探究センター(ExCELLS)心循環ダイナミズム創発研究グループ 自然科学研究機構(NINS)生理学研究所(NIPS)心循環シグナル研究部門

西田 基宏 Motohiro Nishida

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

自然科学研究機構(NINS)生命創成探究センター(ExCELLS)心循環ダイナミズム創発研究グループ 教授 自然科学研究機構(NINS)生理学研究所(NIPS)心循環シグナル研究部門 教授 総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学専攻 教授

Contact

西村 明幸

E-mail: nishimura@phar.kyushu-u.ac.jp

所在地:812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 九州大学 グリーンファルマ 405

E-mail: nishida@nips.ac.jp

所在地:812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 九州大学 グリーンファルマ 401

環境中親電子物質であるメチル水銀(MeHg)への慢性的な曝 露は、ヒトの心疾患リスクを高めると報告されている。われわれ は、神経毒性を誘導しない低用量のMeHg曝露が、マウスにお いて圧負荷により誘発される心不全を増悪化させたことを報告す る。10ppmのMeHg曝露は、高用量時に見られる典型的な体 重減少を誘発しなかった一方で、グアニンヌクレオチド交換因子 Filamin-AによるDrp1の活性化を介して心筋細胞におけるミトコ ンドリアの過分裂を引き起こした。新生仔ラット由来の心筋細胞に おいて、低用量MeHg曝露によるミトコンドリアの過分裂は、 Drp1とFilamin-Aの相互作用の阻害剤であるシルニジピンに よって抑制された。タンパク質中のシステイン残基のポリイオウ化 修飾は、哺乳動物細胞におけるレドックスシグナル伝達およびミト コンドリア恒常性に重要である。われわれは、ラットDrp1のレドッ クス感受性残基 Cys⁶²⁴がバルキーで求核性の高いポリイオウ鎖 (Cys⁶²⁴-S_(n)H)を形成しており、これがMeHgの標的となっている ことを見出した。MeHg 曝露は Drpl Cys⁶²⁴-S_(n)Hの脱イオウ化 を誘導し、それはDrplのフィラミン依存的活性化およびミトコンド リアの過分裂を誘導した。活性イオウ供与体として作用する NaHS処理は、げっ歯類およびヒト心筋細胞ならびにマウス心臓 におけるMeHg誘発性のDrp1 脱イオウ化および機械的負荷に 対する脆弱性を減少させた。これらの結果は、低用量MeHgに よるDrp1 Cys⁶²⁴-S_(n)Hの脱イオウ化が、フィラミン依存的ミトコンド リア過分裂を介して機械的負荷に対する心臓の脆弱性を増大さ せることを示唆する。

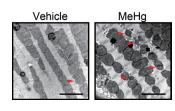


図1:低用量メチル水銀に曝露されたマウスの心筋ミトコンドリア形態 低用量メチル水銀に1週間曝露されたマウスから心臓を単離し、ミト コンドリア形態を電子顕微鏡で観察した。メチル水銀曝露によって 小さく断片化したミトコンドリア(矢頭)が増加していた。スケール バーは1µm。

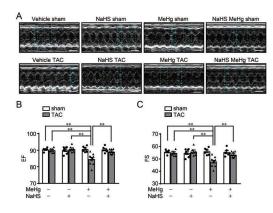


図2:低用量メチル水銀曝露による心臓のストレス脆弱性と活性イ オウ供与体NaHS投与による改善効果

低用量メチル水銀に1週間曝露させたマウスに大動脈狭窄による 圧負荷刺激を行い、1週間後の心機能をエコー検査で調べた。メ チル水銀曝露マウスは圧負荷刺激により心機能が大きく低下した。 一方、大動脈狭窄を行う3日前から活性イオウ供与体NaHSを投 与したマウスでは心機能の改善が見られた。(A) 心エコー図、(B) 左室駆出率(EF)、(C)左室内径短縮率(FS)

健康長寿社会の実現に向けて、 環境要因が疾患リスクを規定するメカニズムを解き明かす

われわれは生きていく過程で様々な環境化学物質に曝露されています。近年、環境因子の複合曝露(Exposome) による生体レドックス動態の変動が疾患リスクを規定する要因であると提唱されています。環境化学物質の多くは電子を好む親電子物質として作用し、求核性を有するタンパク質のシステイン残基と反応することで分子の機能や性質を変化させます。水俣病の原因となったメチル水銀は大型食用魚類などを摂取することで生体内に侵入する環境中親電子物質であり、高濃度曝露により中枢神経障害を誘導することが知られています。一方、ヒトを対象とした疫学研究から、神経障害作用を示さない低濃度曝露によって心疾患リスクが上昇するとも報告されているものの、その詳細なメカニズムについては分かっていませんでした。

私たちの研究室では、心臓の慢性的な機能低下(心不全)の要因となる病的な組織構造改変(リモデリング)機構について研究を進めており、2018年、心筋ミトコンドリアの過分裂(品質異常)が心機能低下の引き金になること、ミトコンドリア分裂促進因子 Drp1が Filamin-Aを介して異常活性化することがミトコンドリア品質異常の分子基盤となることを報告いたしました。そこで今回、メチル水銀の親電子性に着目し、メチル水銀曝露が心筋ミトコンドリアおよび心疾患リスクに与える影響についてマウスモデルを用いて検証しました。低用量メチル水銀(10ppm)を1週間飲水投与したマウスの生存率や心臓収縮力には一見変化が見られなかったものの、大動脈狭窄による圧負荷刺激を行うことで心臓収縮力が大きく減少しました。また、メチル水銀投与マウスの心臓では Drp1 の活性化を介して心筋ミトコンドリアの過分裂が確認できたことから、低用量メチル水銀曝露による心筋ミトコンドリアの過質異常によって心臓のストレス適応力が低下したものと考えられました。メチル水銀による Drp1 活性化機構としてポリイオウ化修飾に着目しました。電子を豊富にもつイオウ原子は求核性が高く、中でもイオウが複数連なった活性イオウ分子種(Cys-SS(n)H)は生体内のレドックス代謝制御を担う中心分子であることが近年明らかにされつつあります。私たちはこれまでに Drp1 のシステイン624番がポリイオウ化修飾されることにより活性を負に制御していることを明らかにしています。親電子性を持つメチル水銀は Drp1 のシステイン624番の脱イオウ化を誘導することでフrp1・Filamin-A 相互作用を増強し、Drp1を活性化しました。一方、活性イオウドナーである NaHSを添加することでメチル水銀による Drp1 脱イオウ化は抑制され、ミトコンドリア過分裂およびストレス脆弱性も改善されることが明らかとなりました。

今回、メチル水銀によるDrp1脱イオウ化を介したミトコンドリア品質異常が心疾患リスクを高める要因となっていることを明らかにしました。健康長寿社会の実現に向けて、疾患リスクの改善は重要な課題となっています。今後、メチル水銀以外の様々な親電子物質に対するDrp1の応答性を検証することで、心疾患リスク制御におけるミトコンドリア品質の重要性を明らかにしていきたいと思います。

九州大学大学院 薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室 自然科学研究機構 生命創成探究センター・心循環ダイナミズム創発研究グループ

私たちの研究室では、血液循環を支配する筋組織(心臓・血管・骨格筋)が様々な環境変化に応答し、心循環恒常性を制御する機構をシグナル伝達の視点から読み解こうとしています。生理研グループと九大グループで連携して心循環恒常性の基礎研究を進めるとともに、心循環恒常性の機能維持を主眼とする新薬開発(創薬)や既承認薬の適応拡大(育薬)を目指した応用研究も積極的に進めています。私たちの研究に興味を持たれた方は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。





アリル炭化水素受容体を介した キヌレニンのシグナル伝達が、 ヒト胚性幹細胞の未分化状態を維持する

Kynurenine signaling through the aryl hydrocarbon receptor maintains the undifferentiated state of human embryonic stem cells

畑林 邦忠 ¹ 有田 真緒 ² 矢島 伸之 ² 竹中 ちえみ ² 鈴木 崇 ³ 髙橋 雅俊 ³ 大島 康弘 ¹ 原 圭祐 ¹ 加川 健一 ¹

1東京エレクトロン株式会社 プロセスインテグレーションセンター 2 神戸医療産業都市推進機構 細胞療法研究開発センター 3 株式会社島津製作所 分析計測事業部



左から川真田 伸、山本 貴子

Contact

川真田 伸 Shin Kawamata

神戸医療産業都市推進機構 細胞療法研究開発センター センター長 理化学研究所 多細胞システム形成研究センター

山本 貴子 Takako Yamamoto

神戸医療産業都市推進機構 細胞療法研究開発センター 技術員

川真田 伸 E-mail: kawamata@fbri.org

所在地:650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町2-2 先端医療センター内

URL: https://www.fbri-kobe.org/rdc/

山本 貴子 E-mail: yamamoto@fbri.org

今回われわれは、未分化ヒトES細胞およびiPS細胞は、培地中にキヌレニン(Kyn)を分泌することを見出した。Kynはトリ プトファン(Trp)からインドールアミン2.3-ジオキシゲナーゼ1(IDO1)によって生成されるが、細胞質内でアリル炭化水素受 容体(AhR)と複合体を形成し、NANOGやPOU5F1などの自己複製遺伝子の転写だけではなくIDO1および AHRの転 写も行っている。このように Kyn/AhR 複合体は、自己複製因子だけでなく、Kyn/AhR-AhR-IDO1 のループを形成するこ とで未分化状態を維持している。一方、AhRとの複合体形成に使われなかった余剰のKynは培地中に分泌され、Trpが 培地中に枯渇しても未分化状態の維持のためのパラクリンシグナルとして細胞の未分化状態を維持している。ES細胞が 分化すると、IDO1の活性が低下し、キヌレニンアミノトランスフェラーゼ2(KAT2、別名AADAT)が介在する主なKvn異 化経路が活性化されることで、Kynの分泌量が減少し、Kyn異化経路の最終産物であるア2-ミノアジピン酸(2-AAA)の 培地中への分泌が生じる。このように培地中のKynは未分化状態を示すバイオマーカーである一方、培地中の2-AAAの 存在は、外胚葉系分化を開始したESCおよびiPSCのバイオマーカーとして活用が可能である。

Figure and Note

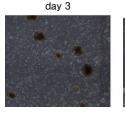


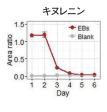


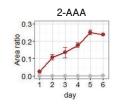
図1:FSC(H9)の分化能を胚葉体(FB)形成能で確認する

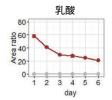
トリプトファンから生成されたキヌレニンは、細胞質のAhRと複合体を形成し自己複製因子と IDO1、AhRの転写を行う。過剰のキヌレニンは培地に分泌される。細胞が外胚葉分化すると、 キヌレニン化経路の活性化により最終産物である2-AAAが培地中に分泌される。

写真は、EB形成3日目と6日目のEBの形状(上)

EB形成時の培地中のキヌレニン、2-AAA、乳酸のLCMSでの測定結果(下)。







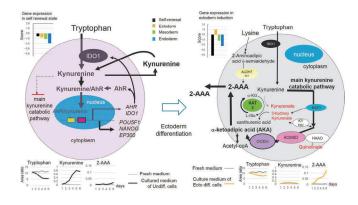


図2: 未分化ESC およびiPSC、ならびに外胚葉分化に関与する ESC およびiPSC の代謝経路の推定スキーマ

IDO1によってトリプトファンから生成されたキヌレニンは細胞質のAhRに結合し、キヌレニン-AhR複合体は核に移行し、自己複製因子、IDO1、および自己複製とIDO1-キヌレニン-AhRループを維持するためのAhRの転写を促進する。シグナル伝達に使用されない余剰のキヌレニンは培地に分泌され、そこで持続的な自己複製シグナルとして機能する。細胞が外胚葉分化に関与すると、キヌレニン異化経路の活性化によりキヌレニンプールが減少する。KAT2はAKAを2-AAAに変換する。これは、追加の経路に使用される代わりに分泌される。キヌレニンとLC-MS/MSを使用した2-AAAの遺伝子発現プロファイルと関連するタイムラプス代謝分析がスキーマに含まれている。

ヒトiPS細胞やES細胞の未分化状態を培養液だけで判断可能。 その仕組みも解明し、細胞治療のiPS細胞の選定に応用

ヒトiPS細胞(人工多能性幹細胞)とES細胞(胚性幹細胞)は多能性幹細胞とよばれ、2つの特徴を併せもっています。1つ目は、特定の細胞に変化していない状態(未分化)を維持しながらほぼ無限に増殖する能力(自己複製能力)、2つ目は、特定の細胞や組織に分化する能力(多能性)です。多能性幹細胞は培養という方法で未分化維持されます。未分化を維持することは培養においてある程度可能ではありますが、この方法でどれくらい未分化が維持されているのか、その中に分化した細胞がどれくらい含まれているかは、細胞を破壊しないとわかりません。また、多能性幹細胞の未分化がどのように維持されるか、未分化状態から離れて分化を開始する方法についての理解もほとんどありません。もし、品質の悪いiPS細胞を使って、特定の細胞、組織に分化させると、分化していない細胞が最終的な細胞、組織に含まれた場合、奇形腫とよばれる腫瘍が形成される可能性があるため、治療上問題となります。また、未分化維持の確認、分化後の細胞の残存iPSの検査のために、細胞を潰して行う検査法では、検査のための細胞を準備しなければなりません。このため、細胞治療では、培養の途中で細胞を破壊せずに、iPS細胞がきちんと未分化の状態が維持されているか確認できること、分化しかかった細胞が検出できるといった判断方法の確立が長年の課題でした。

今回われわれは、未分化状態であるiPS細胞/ES細胞の培養液中にキヌレニン(Kyn)という成分が分泌されていること、分化が始まった状態のiPS細胞/ES細胞の培養培地中には2-アミノアジピン酸という成分が分泌されるようになることを示しました。Kynはトリプトファン(Trp)からインドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ1(IDO1)によって生成されますが、細胞質内でアリル炭化水素受容体(AhR)と複合体を形成し、NANOGやPOU5F1などの自己複製遺伝子の転写だけではなくIDO1およびAHRの転写も行っています。このようにKyn/AhR複合体は、自己複製因子だけでなく、Kyn/AhR-AhR-IDO1のループを形成することで未分化状態を維持しています。一方、分化が始まるとキヌレニン分解経路が働き始め、その分化経路の最終産物である2-アミノアジピン酸を細胞外に放出するようになります。この結果、細胞培地の中に2-アミノアジピン酸が検出され、細胞の分化にスイッチが入ったことを知ることができるようになります。

今回の研究成果で、細胞移植に使われるiPS細胞の製造中の品質管理を、培養液に分泌される特定の成分をモニターすることで簡便かつリアルタイムに実施することが可能になり、安全なiPS細胞由来の移植医療に大きく貢献できるものと考えています。今回の成果は、細胞培養工程の自動化が進む細胞製造分野においても、培養培地の分析を通じた製造中の細胞の持続的な品質監視(in process monitoring)が、いかに有効な品質管理手法になり得るかを示すよい事例にもなると考えています。

産業化へ道を開く、細胞規格化と生産革新

IPS細胞の作製に初めて成功し、世界の注目を集めた日本の再生医療ですが、臨床応用にむけて、多くの課題が残されたままです。

当センターでは、日本の再生医療が抱える課題を一つひとつ解決することで臨床応用や産業化へ橋渡しするために、細胞の検査・評価の基礎研究、臨床試験をサポートする仕組みづくり、安全性を担保する細胞の規格化研究、薬事法に基づく臨床用細胞の製造技術開発など、幅広い取り組みを行っています。中でも私が特に力を注いでいるのは「細胞の規格化」です。細胞を用いた再生医療で最も大きな課題は、人の手で培養された細胞の品質にバラツキがあることです。では、どんな条件で培養し、どんな方法で分析すればいいのか―。このようなことを解決するために、今後はこれらのルールや基準を明確に規定し、安全性が担保された細胞を安定供給できるようにしていくことを目指していきます。



L型アミノ酸トランスポーター LAT1は、mTORC1経路を介して 破骨細胞形成を阻害し、骨の恒常性を維持する

The L-type amino acid transporter LAT1 inhibits osteoclastogenesis and maintains bone homeostasis through the mTORC1 pathway

尾崎 翔¹ 山田 孝紀^{1,†} 石崎 淳志² 平岩 茉奈美^{1,3} 家崎 高志^{1,4} 朴 奎珍^{1,†} 深澤 和也^{1,3} 釜田 ひかり¹ 徳村 和也¹ 本野 芽衣¹ 金田 勝幸¹ 小川 数馬^{2,5} 越智 広樹⁶ 佐藤 信吾⁶ 小林 泰浩⁷ Yun-Bo Shi⁸ Peter M. Taylor⁹

- 1 金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 薬理学研究室
- 金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 臨床分析科学研究室
- 岐阜薬科大学 薬理学研究室
- 金沢大学 先端科学・社会共創推進機構 ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー
- 金沢大学 新学術創成研究機構
- 6 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 細胞生理学分野
- 7 松本歯科大学 総合歯科医学研究所
- 8 Section on Molecular Morphogenesis
- Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development (NICHD),
- National Institutes of Health (NIH)
- ⁹ Division of Cell Signaling and Immunology, School of Life Sciences, University of Dundee



左から檜井 栄一、堀江 哲寛

檜井 栄一 Eiichi Hinoi

金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 薬理学研究室 准教授 (現 岐阜薬科大学 薬理学研究室 教授)

堀江 哲寛 Tetsuhiro Horie

金沢大学大学院 医薬保健学総合研究科 薬理学研究室 (現 岐阜薬科大学 薬理学研究室)

Contact

檜井 栄一 E-mail: hinoi-e@gifu-pu.ac.jp

所在地:501-1196 岐阜県岐阜市大学西1-25-4

URL: https://sites.google.com/gifu-pu.ac.jp/lab-yakuri/

堀江 哲寛 E-mail: horie-te@gifu-pu.ac.jp

溶質輸送体(SLC)トランスポーター遺伝子7a5(solute carrier transporter 7a5: Slc7a5)によってコードされるL型アミノ酸トラン スポーター 1(LAT1)は、特定の細胞種においてアミノ酸の感知と シグナル伝達に重要な役割を果たし、がんや神経疾患の病因に関 与する。LAT1のアミノ酸基質は、骨の健康に直接的および間接 的に有益な効果を及ぼすことから、LAT1が骨の恒常性に関与し ている可能性が示唆される。今回われわれは、破骨細胞のLAT1 が骨の恒常性に重要であることを突き止めた。卵巣摘出による骨 粗鬆症のマウスモデルでは、破骨細胞のSlc7a5発現が大幅に低 下した。マウスにおいてSlc7a5を破骨細胞特異的に欠失させる と、in vivoでは破骨細胞活性化と骨量減少が生じ、in vitroでは Slc7a5欠損により破骨細胞形成が亢進した。Slc7a5の欠損によ り、破骨細胞における機構的ラパマイシン標的タンパク質複合体1 (mTORC1)経路の活性化が障害された一方、Slc7a5欠損マウ スにおいて、mTORC1を遺伝学的に活性化すると、破骨細胞形 成亢進と骨量減少が是正された。最後に、Slc7a5欠損によって、 破骨細胞機能のマスター制御因子である活性化T細胞核内因子 細胞質サブユニット1(nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic 1: Nfatc1) の発現が増加し、NFATc1の核内蓄積 が亢進したが、これらはそれぞれ、古典的核内因子kB経路と Akt-グリコーゲン合成酵素キナーゼ3βシグナル伝達系を介すると 考えられた。以上の結果から、LAT1-mTORC1系は、破骨細胞 のNFATclを調節することによって骨吸収および骨恒常性に中心 的役割を果たし、アミノ酸の摂取と骨格の完全性に分子的なつな がりをもたらしていることが示唆される。

Figure and Note

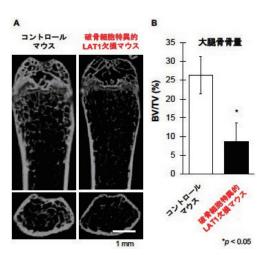
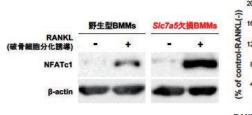


図1:成体マウス大腿骨の画像

マイクロフォーカスX線CTシステムで撮影した画像(A)と骨量の 定量結果(B)。コントロールマウスと比較し、破骨細胞特異的 LAT1 欠損マウスでは骨量が少ないことがわかる。



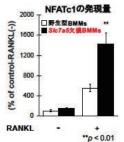


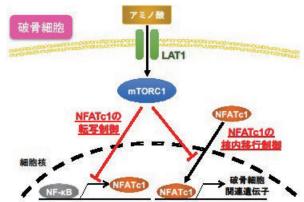
図2:破骨細胞分化誘導時におけるNFATc1の発現

RANKLを曝露して破骨細胞分化誘導をかけると、野生型骨髄マクロファージ(BMMs)と比較してSIc7a5欠損BMMsではNFATc1 (破骨細胞分化に必須の転写因子)の発現が有意に上昇していた。

健康な骨の維持におけるアミノ酸シグナルの重要性

高齢化が進む日本において、骨粗鬆症をはじめとする運動器疾患は健康寿命を短縮させる大きな要因のひとつとなっています。したがって、骨を健康な状態で維持する仕組みを明らかにし、より安全で効果の高い医薬品を開発することには社会的ニーズがあるといえます。

骨組織では、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収とが絶えず繰り返されていることが知られています。私たちはこれまでに、アミノ酸が骨格形成やその恒常性維持に重要な役割を果たしていることを明らかにしてきました。しかし、骨芽細胞や破骨細胞に発現しているアミノ酸トランスポーターが、どのようなメカニズムで骨組織の恒常性を維持しているのかについては明らかとなっていませんでした。そこで本研究では、アミノ酸トランスポーターの一種であるL-type amino acid transporter 1 (LAT1)に着目し、アミノ酸シグナルによる骨組織恒常性維持機構の解明を試みました。



初めに、LAT1が骨芽細胞や破骨細胞で機能するかどうかを評価するために、マウスから骨芽細胞と破骨細胞をそれぞれ単離し、放射標識アミノ酸を用いて各細胞での取り込みを調べました。その結果、どちらの細胞でもアミノ酸の取り込みが確認され、この取り込みはLAT1阻害剤によって有意に抑制されました。また、閉経後骨粗鬆症モデルマウスを作製し、破骨細胞でのSlc7a5(LAT1をコードする遺伝子)の発現を調べたところ、偽手術を施したコントロールマウスと比較して有意に低下していました。

続いて、生体内におけるLAT1の重要性を明らかにすべく、骨芽細胞特異的および破骨細胞特異的Slc7a5欠損マウスをそれぞれ作製しました。骨芽細胞特異的Slc7a5欠損マウスでは骨代謝異常は見られなかった一方、破骨細胞特異的Slc7a5欠損マウスでは骨量が有意に減少し、骨吸収が亢進していることがわかりました。

そこで、LAT1が破骨細胞に与える影響を詳細に調べるために、in vitro実験を実施しました。Slc7a5を欠損させた骨髄マクロファージ(BMMs)を破骨細胞へと分化させたところ、野生型BMMsを用いた場合と比較して破骨細胞数が有意に増加しました。一方、野生型BMMsとSlc7a5欠損BMMsとの間で増殖や生存に有意な差は見られませんでした。さらにSlc7a5欠損によって、mTORC1シグナルが抑制され、破骨細胞分化のマスターレギュレーターであるNfatc1の発現およびNFATc1の核内移行がともに上昇していることが明らかとなりました。

以上の結果から、LAT1は細胞の増殖や生存に影響を与えることなく、mTORC1/NFATc1シグナルを介して破骨細胞形成を負に制御することが示唆されました。本研究成果は、骨代謝異常によって引き起こされる様々な骨系統疾患に対する新たな知見と解決法を提供し、アンメット・メディカル・ニーズの解消にも貢献することが期待されます。

アカデミア発の革新的治療薬の創製を目指して

私たちは運動器疾患や骨系統疾患の発症メカニズム解明を目的とし、様々な 遺伝子改変マウスを用いた研究を行ってきました。現在では、これまでの研究を 発展させ、がんやエネルギー代謝異常、神経機能異常といった様々な疾患の 発症・進展メカニズムの解明に取り組んでいます。そして、得られた知見をベー スとし、アカデミア発の新規治療薬の開発を目指して日夜研究活動に邁進して います。



適応的交差薬剤耐性において 腫瘍表現型可塑性と代謝リモデリングを標的にする

Targeting tumor phenotypic plasticity and metabolic remodeling in adaptive cross-drug tolerance

Aaron Goldman^{1,2,3} Sachin Khiste^{1,2} Elizaveta Freinkman^{4,†} Andrew Dhawan⁵ Biswanath Majumder^{3,6} Jayanta Mondal^{1,2} Anthony B. Pinkerton Elliot Eton Ragini Medhi^{2,‡} Vineethkrishna Chandrasekar M. Mamunur Rahman Anthony B. Pinkerton Kodaganur S. Gopinath⁹ Pradip Majumder³ Mohammad Kohandel¹⁰ Shiladitya Sengupta^{1,2,11,12}

- ¹ Department of Medicine, Harvard Medical School
- Division of Engineering in Medicine, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital
- ³ Mitra Biotech, Integrative Immuno-Oncology Center
- ⁴ Whitehead Institute for Biomedical Research
- School of Medicine, Queen's University
- 6 Mitra Biotech
- Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute
- 8 Medical and Biological Laboratories International
- ⁹ Department of Surgical Oncology, HCG Bangalore Institute of Oncology Specialty Center
- ¹⁰ Department of Applied Mathematics, University of Waterloo
- 11 Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology
- ¹² Dana-Farber Cancer Institute
- 現 Metabolon Inc
- ‡ 現 Wellcome Trust Cancer Research UK Gurdon Institute and Department of Genetics, University of Cambridge



市村 隆治 Takaharu Ichimura

Associate Biologist, Division of Engineering in Medicine and Division of Renal Medicine, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital Instructor in Medicine, Harvard Medical School

Contact

E-mail: tichimura@bwh.harvard.edu 所在地: 75 Francis St. Boston, MA 02115, USA

がん細胞における準安定表現型状態遷移は、化学療法に対する一過性の適応的抵抗性または耐性の発生につながる 可能性がある。今回われわれは、日常的に使用される、タキサンなどの細胞傷害性薬剤に対する耐性応答として、乳がん 細胞がCD44発現量の増加を特徴とする表現型 $(CD44^{\rm Hi})$ を獲得することによって、代謝スイッチが活性化され、アントラサ イクリンなどの、無関係の標準治療化学療法薬に対する耐性が付与されたことを報告する。誘導されたCD44^{HI}表現型を、 解糖および酸化経路両方の活性上昇と、ペントースリン酸経路(PPP)を介するグルコースフラックスに結び付ける、一連の 分子事象の特性を明らかにした。タキサン、アントラサイクリン、糖代謝を調節するグルコース-6-リン酸脱水素酵素(G6PD) の阻害薬を特定の順序で併用投与すると、乳がんマウスモデルにおいて個体の生存が改善した。同じ順序の3剤併用療 法により、人工培養組織系において患者乳腺腫瘍細胞の生存率が低下した。これらの結果からは、臨床的に用いられる 薬剤併用に対してがん細胞の生存を有利にする、表現型変化と代謝変化の連関が示唆される。この連関を薬剤の標的と することが、交差薬剤耐性の克服を可能にし、がん治療の新たなパラダイムになると考えられる。

Figure and Note

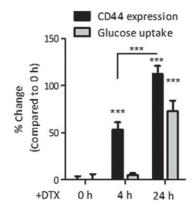


図1:タキサン投与後の乳がん細胞のCD44とグルコース取り込み タキサン投与後に、乳がん細胞ではCD44の発現量増加と、グルコース取 り込みの増大が継時的に起こり、これがアントラサイクリンへの耐性獲得に 直結する。

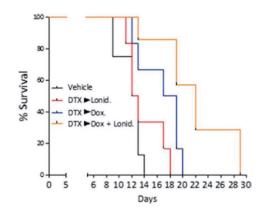


図2:乳がんモデルマウスの、タキサン、およびアントラサイクリンとG6PD阻 害剤投与による生存率

乳がんモデルマウスの生存率は、タキサン(DTX)投与後、アントラサイクリン (Dox)とG6PD阻害剤(Ionidamine)の併用投与により、顕著に改善する。

がん細胞の糖代謝の変化が 複数の抗がん剤への耐性を誘導する

がん細胞の薬剤耐性の獲得は、がんによる死亡の大きな要因を占めています。古典的には、がん細胞の薬剤耐性は、遺伝子変異の結果として生じるものとされてきました。しかし近年、がんの不均質性に由来する非遺伝的な機序、言わば、がん細胞があたかも薬剤によって鍛えられたかのように薬剤耐性を獲得する機序について、新たな知見が指摘されてきています。われわれは以前、タキサンに曝露された乳がん細胞は、タキサンへの耐性と細胞表面のCD44の発現量の増大(D44^H)を示すことを報告しています。一般的に、がん細胞はWarburg効果と呼ばれる解糖系に依存する嫌気的な代謝状態をベースとして生存していることと絡めて、本研究ではCD44と糖代謝に関連した、がん細胞の新規の抗がん剤薬剤耐性獲得機序について探求しました。

今回われわれは、タキサンへの曝露により誘導された耐性の乳がん細胞(DTCC)と通常の乳がん細胞(Parental)に対し、糖代謝の変化の解析を行いました。細胞外フラックスアナライザーなどを用いた解析により、DTCCはParentalに比較し、解糖系とミトコンドリアでの酸化的リン酸化の双方、さらにはペントースリン酸経路を含む糖代謝全体が活性化していることがわかりました。DTCCはタキサンだけでなく、アントラサイクリンにも耐性を示し、この耐性はがん細胞の糖代謝、特にグルコース-6-リン酸脱水素酵素(G6PD)を抑制することが知られるlonidamineの投与により解消されました。DTCCはCD44を多量に発現しており(CD44^{III}表現型)、siRNAなどを用いた実験により、DTCCにおける糖代謝の活性化はこのCD44の発現自体に依存していることがわかりました。動物モデルの実験として、乳がんモデルマウスに、タキサンの投与を行いDTCC同様の耐性を誘導後、アントラサイクリンとlonidamineの投与を行ったところ、生存率が有意に改善しました。同様の実験を、ヒト乳がん摘出検体からの外植片の培養実験系でも実施し、腫瘍組織片の生存率を低下させることに成功しました。

本研究により、抗がん剤への曝露によりがん細胞に誘導される、CD44^Hという特定の表現型が、がん細胞自体の糖代謝全体の活性化という変化を引き起こし、それが異なる種類の抗がん剤への耐性をも誘導することが示されました。また、変化した糖代謝自体への介入により、耐性を得たはずの薬剤への感受性の再誘導にも成功しており、これはがんの新たな耐性獲得メカニズム解明に留まらず、実際の新規の薬剤耐性を克服する強力な治療戦略となり得ることを示しています。糖代謝阻害剤を含めた新たながんの多剤併用化学療法レジメンの開発や、薬剤耐性を誘導しうる糖代謝変化をターゲットとした新たな創薬が期待されます。

腎臓領域でのtranslational researchを目指して

Harvard Medical School/Brigham and Women's Hospitalの内科・腎臓部門に所属する森雄太郎と申します。同じ研究室に所属する、共同研究として本論文を執筆された市村隆治先生に代わり、本原稿を作成させて頂きました。私どもの研究室のトップは当院の腎臓・医療エンジニアリング両部門の代表も兼ねるJoseph V. Bonventre教授です。Bonventre教授の指導のもと、実際の臨床現場での着想から、分子・細胞・動物・ヒト検体のすべてにまたがる基礎研究を展開し、臨床の現場へ還元することを理念として、研究活動を行っております。当研究室より、急性腎障害のバイオマーカーであるKIM-1、慢性腎臓病の病態生理、IPS細胞に由来する腎臓オルガノイドなど、多数の知見を報告してきました。近日中に、糖尿病性腎臓病の病態の解明と新規薬剤の候補を発表予定であり、腎臓疾患の診療においてパラダイムシフトを起こせるものと確信しております。



ジアシルグリセロールキナーゼζは アレルギー性気道炎症と気道過敏性を 異なる機序で促進する

Diacylglycerol kinase ζ promotes allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness through distinct mechanisms

Brenal K. Singh¹ Wen Lu¹ Amanda M. Schmidt Paustian¹ Moyar Q. Ge² Cynthia J. Koziol-White³ Cameron H. Flayer² Sara S. Killingbeck² Nadan Wang⁴ Xinzhong Dong⁵ Matthew J. Riese⁶ Deepak A. Deshpande⁴ Reynold A. Panettieri Jr.³

- Department of Pathology and Laboratory Medicine, Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania
- ² Pulmonary, Critical Care and Sleep Division, University of California, Davis
- ³ Rutgers Institute for Translational Medicine and Science, Rutgers University
- Department of Medicine, Center for Translational Medicine, Thomas Jefferson University
- The Solomon H. Snyder Department of Neuroscience, Center for Sensory Biology, School of Medicine, Johns Hopkins University
- ⁶ Blood Research Institute, Blood Center of Wisconsin



上林 拓 Taku Kambavashi

Associate Professor, Department of Pathology and Laboratory Medicine, Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania

Contact

E-mail: kambavat@pennmedicine.upenn.edu

所在地:288 John Morgan Building, 3620 Hamilton Walk, Philadelphia, PA 19104. USA URL: http://pathology.med.upenn.edu/department/people/448/taku-kambayashi

喘息は、吸入アレルゲンの免疫応答異常によって生じる慢性アレ ルギー性炎症性気道疾患で、収縮刺激に対する気道過敏性 (AHR) および気道閉塞が生じる。 T ヘルパー 2(TH2) の分化の 遮断は、アレルギー性喘息に対する有効な治療戦略であり、強力 なTCR介在性ERK活性化はTH2の分化を遮断する。本稿で は、ジアシルグリセロール(DAG)介在細胞シグナル伝達の負の調 節因子であるDAGキナーゼゼータ(DGKζ)を標的とすることで、 気道炎症とAHRが独立した機序を介して同時に抑制され、アレ ルギー性喘息が予防されたことを報告する。T細胞特異的な DGKζ欠損は、AHRを抑制することなく、2型炎症を減少させた。 一方、気道平滑筋細胞中のDGKCの喪失では、AHRは抑制さ れたが、気道炎症は抑制されなかった。T細胞特異的なERKシ グナル伝達の亢進は、2型気道炎症を制限するには十分であった が、AHRの制限には十分ではなかった。DGKの薬理学的阻害 は、マウスにおける気道炎症とAHRの両方を抑制し、in vitroで ヒト気道標本の気管支収縮も抑制した。これらのデータから、 DGK はこれまで認識されていなかった喘息の治療標的であること が示唆され、また気道炎症とAHRは一般に考えられているほど 相互依存的ではないことが明らかになった。

Figure and Note

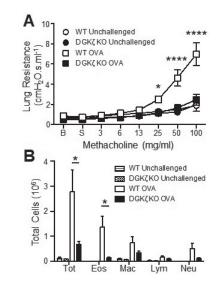


図1:DGK ζ欠損がアレルギー性喘息に与える影響 卵白アルブミン(OVA)をアレルゲンとした喘息モデルで野生型 (WT)マウスとDGK ζ欠損(DGK ζ KO)マウスを比較すると(A)気 道過敏性と(B) 気道炎症はDGK ζ欠損マウスで抑制される。

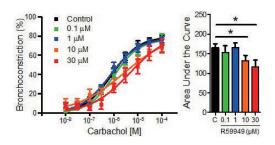


図2:DGK阻害薬がヒト気道収縮に与える影響 Carbachol誘導性ヒト気道収縮はDGK阻害薬(R59949)によっ て用量依存的に抑制される。

DGK 阻害は気道炎症と気道過敏性を同時に抑える喘息の新しい治療戦略

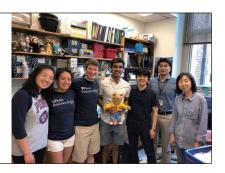
DGKはDAGをリン酸化する酵素であり、DAG媒介シグナル経路を抑制します。よってDGK阻害はDAG媒介シグナル経路を上昇させ、免疫細胞の活性化につながります。免疫活性の重要な因子としてERKがDAG下流にあります。しかし、ERKの活性化はT細胞分裂とTヘルパー1(Th1)の分化誘導を促進させる一方で、Tヘルパー2(Th2)の分化誘導を抑えます。すなわち、DGK阻害は免疫機能を一律に活性化する訳ではなく、Th1指向性があります。そこで今回、DGK阻害によるTh2分化の遮断はアレルギー性喘息の治療に役立つのではないかとの着想に至りました。

はじめに、DGK ζ 欠損がERK 依存的にTh1の分化誘導を促し、Th2の分化誘導を抑えることを確認しました。また、アレルギー性喘息モデルにおいて、DGK ζ 欠損マウスでは気道炎症と気道過敏性が抑制されることがわかりました。しかし、予期しないことに気道炎症はT細胞のDGK ζ 欠損によって、気道過敏性は平滑筋のDGK ζ 欠損によって別々に抑制されることが判明しました。これは気道炎症の抑制と気道過敏性の抑制が異なるメカニズムで行われることを意味します。DGKの異なるアイソフォームであるDGK α を欠損したマウスでも弱めではあるものの、喘息抑制効果が見られました。現在、DGK阻害薬はDGK α を阻害する化合物しか発見されていません。アレルギー性喘息モデルにおいて、DGK α 阻害薬(R59949)投与は、DGK α 欠損の場合と同程度に気道炎症と気道過敏性を抑制しました。さらに、R59949はCarbachol 誘導性とト気道収縮も抑制しました。

喘息の治療は炎症を抑えるだけではなく、気道過敏性とその収縮を同時に抑える必要があるため、通常、作用の異なる複数の薬剤の投与が必要となります。しかし、今回の研究で明らかになった喘息の新しい標的(DGK)には両方の効用があり、単一の阻害薬で治療を行える可能性が切り開かれました。本稿ではDGKα阻害薬でしかDGK薬物阻害の効果を検証できませんでした。DGK欠損マウスの結果を考慮すると、DGKζ阻害薬がより効果的に喘息症状を抑える可能性があり、DGKζ阻害薬の開発とその喘息治療への応用が期待されます。DGKによるT細胞の分化誘導でERKが重要な因子であることは確認できました。他方、DGKがどのようなメカニズムで平滑筋の収縮に影響しているかは不明で、今後の研究課題となります。

試験管から患者さんのベッドの元へ繋げる研究

欧米で俗に言われる"from bench to bedside"を日本語に訳すと"試験管から患者さんのベッドの元へ"となります。これは基礎科学で発見されたことを病気の治療や検査に結びつけ、患者さんの役に立たせる事を意味します。私はPhysician Scientist(医師でありながら基礎研究者)であり、ありきたりだと思われるかもしれませんが、"from bench to bedside"の実現こそが使命であり、Physician Scientist冥利に尽きると考えています。上林研では、シグナル経路と免疫細胞機能を結びつけることにより、新しい治療標的の発見(Target Discovery)に力を入れています。それに基づき新しい治療薬を開発し、いつか患者さんのお役に立つことができればよいと願っています。



発達に伴うKCC2の脱リン酸化は GABA作動性抑制発現さらに生存にも必須である

Developmentally regulated KCC2 phosphorylation is essential for dynamic GABA-mediated inhibition and survival



左から福田 敦夫、渡部 美穂、Kristopher T. Kahle

福田 敦夫 Atsuo Fukuda

浜松医科大学 医学部医学科 神経生理学講座 教授 浜松医科大学 光尖端医学教育研究センター 先進機器共用推進部 部長(兼任)教授

渡部 美穂 Miho Watanabe

浜松医科大学 医学部医学科 神経生理学講座 助教

Kristopher T. Kahle

Assistant Professor, Departments of Neurosurgery, Pediatrics, and Cellular and Molecular Physiology; Centers for Mendelian Genomics, Yale School of Medicine

全著者リスト: https://stke.sciencemag.org/content/12/603/eaaw9315.full

Contact

福田 敦夫 E-mail: axfukuda@hama-med.ac.jp

所在地:431-3192 静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号

URL: https://www.hama-med.ac.jp/education/fac-med/dept/neurophysiology/index.html

カリウム-クロライド共役担体KCC2(SLC12A5遺伝子に よりコードされる)はγ-アミノ酪酸(GABA)による抑制性神 経伝達を形成しており、KCC2機能の低下は神経発達障 害の病因となるにもかかわらず、中枢神経系(CNS)の成 熟過程におけるKCC2の機能制御メカニズムは明らかに されていない。本研究では定量的リン酸化プロテオミクス 解析を行い、KCC2のリン酸化部位を同定し、マウス CNS の発達過程におけるリン酸化状態の変化を検討したとこ ろ、発達期にはKCC2のThr⁹⁰⁶およびThr¹⁰⁰⁷がリン酸化 されており、GABA作用が興奮性から抑制性に変化する 時期に一致して脱リン酸化されることがわかった。Thr 906 およびThr¹⁰⁰⁷のリン酸化状態を模倣したKCC2変異体 T906E/T1007Eを発現し、発達過程で認められたThr⁹⁰⁶ および Thr 1007 の 脱リン酸化を妨げたノックインマウス (Kcc2^{E/E})を作製し解析を行ったところ、頸神経より記録さ れる呼吸リズムが消失しており、呼吸停止により出生後数時 間で死亡が認められた。また、Kcc2^{E/E}マウスではKCC2に よるCI排出能が低下しており、腰神経より記録される歩行 リズムが乱れており、接触刺激によるてんかん発作も認め られた。これらの結果より、CNSの成熟過程にKCC2の Thr906 およびThr1007のリン酸化が適切に制御されることが GABAによる抑制性神経伝達の形成および生存に必須 であることが明らかになった。

Figure and Note Hom **J**20 µ√

図1:脊髄第4頸神経より記録された自発性の呼吸リズム

野生型マウス(WT)および Kcc2 F/wt マウス(Het) では自発性の呼吸リズムが 記録されたが、Kcc2^{E/E}マウス(Hom)ではリズムが認められなかった。

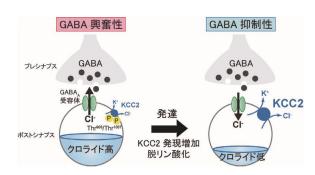


図2: KCC2のリン酸化による機能制御

発達期にはKCC2のThr906とThr1007がリン酸化されているためKCC2の機 能が抑制されており、発達に伴い脱リン酸化されることでKCC2が機能し始 め、GABAによる抑制性神経伝達が形成される。

リン酸化によるKCC2機能制御

脳内の主要な抑制性伝達物質であるGABAは発達期には興奮性伝達物質として働き、細胞増殖、神経細胞の移動、神経回路形成などにおいて重要な役割を持っています。GABAが興奮性であるか抑制性であるかは細胞内CI濃度により決定され、CI濃度が高いと興奮性に働き、低いと抑制性に働きます。発達に伴いCIを細胞外にくみ出す KCC2の発現量が増加することにより、GABA作用は興奮性から抑制性に変化します。一方で、KCC2の機能はリン酸化による制御を受けており、KCC2が機能し始める時期に一致して、KCC2のThr⁹⁰⁶とThr¹⁰⁰⁷の脱リン酸化がおこることをin vitroの実験でわれわれは報告してきました。そこで、発達前はKCC2のThr⁹⁰⁶とThr¹⁰⁰⁷がリン酸化されているために機能が抑制されており、発達に伴い脱リン酸化されることでKCC2が機能し始め、GABA作用が興奮性から抑制性になる可能性を考えました。

本研究ではリン酸化によるKCC2機能制御の役割について個体レベルで明らかにするために、Thr 906 とThr 1007 をグルタミン酸に置換し、この部位のリン酸化状態を模倣し、発達に伴う脱リン酸化を妨げた遺伝子改変マウス($Kcc2^{E/E}$ マウス)を作製し、解析を行いました。 $Kcc2^{E/E}$ マウスは生後10時間前後で死亡しました。KCC2によるCIの細胞外へのくみ出し能力が低下しており、痛覚および接触刺激によりてんかん発作が認められ、死亡前には自発発作の頻度の増加がみられました。脊髄第4頸神経より記録される自発性の呼吸リズムがみられず、第2腰神経より記録される歩行リズムが乱れていました。また、スパイン形成は正常に認められましたが、中隔、視床下部、海馬、大脳皮質の神経分布に異常がみられました。よって、発達期にKCC2のThr 906 とThr 1007 のリン酸化が適切に制御されることが、抑制性GABA伝達の形成、神経発達および生存に必須であることが示唆されました。適切な時期に脱リン酸化が起こり、KCC2が機能し始めないと、GABA作用が興奮性から抑制性に変化しないため、興奮性伝達と抑制性伝達のバランスが崩れ、その結果、生存することができないことが明らかになりました。

成熟した脳でもKCC2が正常に機能しないと、細胞内CI濃度が高くなり、GABAによる抑制作用が低下します。てんかんや自閉症、統合失調症などの様々な精神疾患では神経回路の興奮性と抑制性のバランスが崩れることが病因のひとつであることがわかってきており、KCC2の機能低下によるGABAの抑制力の低下が関与している可能性が考えられます。今回の発見によりKCC2の機能はリン酸化により制御されることが明らかになったため、KCC2のThr⁹⁰⁶とThr¹⁰⁰⁷のリン酸化部位をターゲットとした新薬の開発が期待できます。

CIホメオダイナミクス

GABAA 受容体・CI チャネルが開口するとCI は濃度勾配に従い細胞外から流入して、膜電位を過分極し神経活動を抑制します。ところが、細胞内 CI 濃度が高く濃度勾配が減少すると、今度は電気勾配に従って CI が細胞外に流出して脱分極を起こし、時として興奮性に作用します (CI ホメオダイナミクス)。筆者が昔スタンフォードに留学中のころに着想を得てこの研究を始めました。 Kahle は別のラボでお互い面識がなかったので、今回は一本の電話を受けたことから共同研究が始まり、新学術オシロロジー総括班による国際共同研究加速基金の支援第1号にもしていただきました。

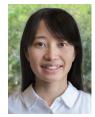


植物へテロ三量体GTP結合タンパク質の ヌクレオチド交換依存性および非依存性機能

Nucleotide exchange-dependent and nucleotide exchange-independent functions of plant heterotrimeric GTP-binding proteins

Yuri Trusov¹ David Chakravorty² 浦野 大輔³ Sarah M. Assmann² Jose R. Botella^{1,4}

- ¹ Plant Genetic Engineering Laboratory, School of Agriculture and Food Sciences, University of Queensland
- ² Department of Biology, Pennsylvania State University
- ³ Temasek Life Sciences Laboratory, 1 Research Link, National University of Singapore
- ⁴ State Key Laboratory of Cotton Biology, Department of Biology, Institute of Plant Stress Biology, Henan University



丸田 菜津美 Natsumi Maruta

Plant Genetic Engineering Laboratory, School of Agriculture and Food Sciences, University of Queensland (現 Postdoctoral Research Fellow, School of Chemistry and Molecular Biosciences, University of Queensland)

Contact

E-mail: n.maruta@uq.edu.au

所在地: Brisbane, St Lucia QLD 4072, Australia

α、β、γサブユニットで構成され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)は、グアニンヌクレオチド に依存する多機能の分子オン・オフスイッチである。動物および真菌では、Gα上でのGDPとGTPの交換がGタンパク質 の活性化を調節しており、多様な細胞外シグナルに対する正常な細胞応答に不可欠である。モデル植物であるシロイヌナ ズナ(Arabidopsis thaliana)は、単一の標準的GαサブユニットAtGPA1を有する。われわれは植物体において、構成的 に活性化したGTP結合型 AtGPA1(Q222L)変異体とヌクレオチド非結合型 AtGPA1(S52C)変異体がGβy1二量体およ びGβγ2二量体と同等の親和性で相互作用することを明らかにした。このことから、Gタンパク質へテロ三量体はヌクレオチ ド交換とは独立して起きることが示唆された。対照的に、Gβγ3に対する親和性はAtGPA1(Q222L)のほうがAtGPA1 (S52C)よりも強かったことから、GTP結合型 AtGPA1(Q222L)の立体構造は別個であり、Gβγ3と強固に会合することが 示唆された。gpa1ヌル変異体をバックグラウンドとして AtGPA1(S52C)または AtGPA1(Q222L)のいずれかを発現する遺 伝子導入系を機能解析したところ、AtGPA1(S52C)またはAtGPA1(Q222L)のいずれかによって相補される多様な変異 表現型が明らかにされた。われわれは、標準的なGDP-GTP交換依存性機構に加えて、植物 Gタンパク質にはヌクレオチ ド交換とは独立して機能しうる機構があると結論付ける。

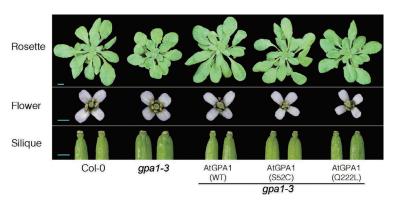


図:相補レスキュー法によるAtGPA1機能解析

AtGPA1を欠損した植物(gpa1)にAtGPA1(S52C)また はAtGPA1(Q222L)変異体を発現したところ、葉、花、鞘 の形態異常が野牛型表現型へ回復することが観察された。

植物Gタンパク質のヌクレオチド交換に依存しない機能の発見

動物や植物の細胞は様々な細胞外刺激(シグナル)を感知し、それらに対して適切に応答することにより恒常性を維持しています。このようなシグナル伝達においてGTP結合タンパク質(Gタンパク質)が重要な役割を果たします。Gタンパク質は α 、 β 、 γ サブユニットからなるヘテロ三量体として存在します。グアニンヌクレオチドであるGDPまたはGTPに特異的に結合する α サブユニットがGDPからGTPへと交換反応を起こすことでGタンパク質は活性化し、ホルモンや神経伝達物質などの細胞外からの情報を細胞内に伝達します。動物では α サブユニットがGTPに正常に結合できない場合や恒常的にGTPに結合した場合、様々な病気を引き起こす原因となります。植物ではGタンパク質が生長やストレス応答に必要不可欠ということが α サブユニットのヌル変異体の表現型の解析により明らかになっておりますが、GTP結合が植物細胞のシグナル応答に必要かどうかは知られていませんでした。

今回の研究では、モデル植物シロイヌナズナの α サブユニット(AtGPA1)、GTPおよびGDPに結合が不可能な AtGPA1(S52C)変異体、そして恒常的活性化型である AtGPA1(Q222L)変異体いずれかをヌル変異体(gpa1) で発現し、それぞれがどのように生長やストレス反応に作用するかを調べました。gpa1変異体は胚軸、葉、花、鞘の 形態異常を示したり、乾燥ストレスによって誘導される植物ホルモン(アブシシン酸)に応答して気孔を閉鎖したりする 能力に欠けています。しかしこれらの変異表現型は AtGPA1(S52C)または AtGPA1(Q222L) いずれかの発現に よって野性型に回復することが観察されました。一方で、gpa1変異体はアブシシン酸による種子の発芽の抑制機能 が欠損している他、気孔密度が野生型より低いことが知られていますが、これらの変異表現型は AtGPA1(S52C) 発現では相補されず、AtGPA1(Q222L)が野生型 AtGPA1以上に強く相補することがわかりました。これらの結果 から、植物のGタンパク質はGTP結合に依存しないメカニズムで機能することができると同時に、動物のGタンパク質のようにGDP-GTP交換に依存する機構も保存されていることが示されています。

本研究により、植物 G タンパク質は、動物 G タンパク質に見られる GTP 結合依存性の活性化機能と、それとは異なる独特の活性化機能の両方を持つことが示唆されました。今後の研究では、GDP-GTP 交換非依存性メカニズムの解明が必要とされます。特に G タンパク質はイネやトウモロコシなどの作物において収穫量など農業に重要な特性を制御することが知られています。それらが G タンパク質のどちらの活性化機構により貢献されるのかを調べる必要があります。最終的に農業維持への貢献も期待されます。

オーストラリア、クイーンズランド大学での研究

クイーンズランド大学はオーストラリアのクイーンズランド州ブリスベンに 1909 年に設立された総合大学です。8つの研究機関(分子生命科学研究所、生物工学・ナノテクノロジー研究所、農業食イノベーション研究所、脳科学研究所、がん・免疫学・代謝医療研究所、気候変動研究所、持続可能な鉱物資源研究所、社会科学研究所)を設けており、最先端の研究や開発は国内外から高く評価を受けています。



ALK-1/SMAD/ATOH8経路は低酸素応答を減弱させ、 肺動脈性肺高血圧症の発症を防止する

The ALK-1/SMAD/ATOH8 axis attenuates hypoxic responses and protects against the development of pulmonary arterial hypertension

三谷 義英¹ Katarina Holmborn² 加藤 太一^{1,*} 鯉沼 代造³ 丸山 淳子^{4,†} Eleftheria Vasilaki^{5,6} 澤田 博文^{1,4} 小林 茉愛³ 小澤 崇之 ³ 森下 保幸 ³ 別所 康全 ^{7‡} 前田 真吾 ⁸ Johan Ledin ² 油谷 浩幸 ⁹ 影山 龍一郎 ⁷ 丸山 一男 ⁴ Carl-Henrik Heldin ^{5,6}

- 三重大学大学院 医学系研究科 小児科学
- Genome Engineering Zebrafish Facility, Science For Life Laboratory, Uppsala University
- 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
- 4 三重大学大学院 医学系研究科 麻酔集中治療学
- ⁵ Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University
- ⁶ Ludwig Institute for Cancer Research, Uppsala University

- 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所
- 鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 医療関節材料開発講座
- ⁹ 東京大学 先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス分野
- * 現 名古屋大学大学院 医学系研究科 小児科学/成長発達医学
- † 現 鈴鹿医療科学大学 医用工学部
- ‡現 奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域



左から森川 真大、宮園 浩平

森川 真大 Masato Morikawa

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 助教 Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University Ludwig Institute for Cancer Research, Uppsala University

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 Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University Ludwig Institute for Cancer Research, Uppsala University

Contact

宮園 浩平 E-mail: miyazono@m.u-tokyo.ac.jp

所在地:113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 医学部教育研究棟11階

URL: http://beta-lab.umin.ac.jp/

内皮細胞(EC)における骨形成因子(BMP)シグナル伝達の調節不全は、肺動脈性肺高血圧症(PAH)などの血管疾患 に関与する。今回われわれは、転写因子ATOH8がSMAD1/5の直接標的であり、BMP依存的に、ただしECにおいて BMPと協調的に機能することが知られるNotch経路には依存しない形で、誘導されることを示した。ゼブラフィッシュとマウ スにおいて、Atoh8の不活性化により、Notchシグナル伝達の調節不全から生じると考えられる動静脈奇形様表現型は引 き起こされなかった。一方、Atoh8欠損マウスは、肺動脈圧上昇や右室肥大などの、PAHに類似する表現型を示した。さ らに、PAH 患者の 肺ではATOH8 発現が低下していた。細胞レベルの解析では、ATOH8 は低酸素誘導因子 2α $(HIF-2\alpha)$ と相互作用してその蛋白量を減少させ、低酸素に応答した $HIF-2\alpha$ 標的遺伝子の誘導を低下させることが示さ れた。これらの結果を総合すると、II型BMP受容体/ALK-1/SMAD/ATOH8経路は、肺循環においてECの低酸素 応答を減弱させ、PAH発症の防止に寄与する可能性があることが示唆される。

Figure and Note

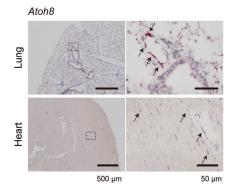


図1:肺におけるAtoh8の発現部位

in situハイブリダイゼーション法により、正常マウスの肺と心臓でAtoh8 mRNAの発現を評価した。右図: 左図の点線部分の拡大。肺細動脈の血 管内皮細胞部分にドット状の染色が認められる(矢印)。

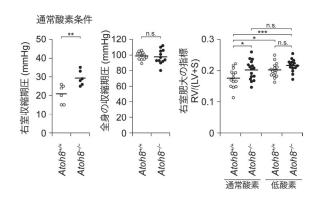


図2: Atoh8欠損マウスで認められた肺動脈性肺高血圧症類似の表現型 Atoh8欠損マウス(Atoh8-/-)では、全身の血圧は変化がないが、右室収 縮期圧の増加が認められる。また、右室肥大の指標であるRV/(LV+S)の 増加も認められる。

肺動脈性肺高血圧症における BMP/SMAD経路の標的遺伝子を同定

肺動脈性肺高血圧症の患者さんの多くでは、BMPR2という骨形成因子 (BMP)の受容体の遺伝子の異常が見つかります。またBMPR2の他にも、BMPの働きに関係した遺伝子や下流にあたる転写因子 SMADの異常が見つかることがあり、肺高血圧症の発症・進展にBMP/SMAD経路が重要な役割を果たしていると考えられています。しかし、異常なBMPR2遺伝子を持っていても肺高血圧症を発症する確率は $10\% \sim 20\%$ とされており、BMP/SMAD経路がどのように病気の発症・進展に関与するかは完全には解明されていませんでした。

私たちは、これまで次世代シークエンサーを用いた解析法であるクロマチン免疫沈降シークエンス法(ChIP-seq法)を活用して、血管内皮細胞におけるBMPの標的候補遺伝子を同定していました。それら候補遺伝子の中で、心臓や血管の機能に関係した各種データベースをもとにスクリーニングを行い、これまで詳細な機能が知られていなかった転写因子 ATOH8に注目しました(図1)。ゼブラフィッシュやマウスという複数の動物モデルで ATOH8の個体レベルでの機能を解析し、BMPに関係した遺伝疾患の中で、Atoh8欠損マウスが肺動脈性肺高血圧症に類似した表現型を呈することを明らかにしました(図2)。また、ヒト患者由来サンプルを再解析することで、肺高血圧症患者ではATOH8の発現が低くなっていることを確認しました。さらに、細胞レベルの解析で、BMPは ATOH8蛋白の発現を増やすことで低酸素応答に対して保護的に機能すること、ATOH8は低酸素応答で中心的な役割を果たす HIF-2のの蛋白量を減少させること、を明らかにしました。

BMPが低酸素による血管内皮細胞の障害に対して保護的役割を果たすことは知られていましたが、今回の発見からATOH8とHIF-2αがこの経路で重要な役割を果たすことが予想されます。最近になって、HIF-2α阻害薬が肺動脈性肺高血圧症の動物モデルで治療効果を発揮したという報告があり、この結果にも合致します。今回の研究がきっかけとなり、肺動脈性肺高血圧症の発症・進展におけるBMP/SMAD経路の役割がさらに明らかになると考えられます。

肺の血管を拡げて血液の流れを改善させる治療法が開発されたことにより、患者さんの予後は改善しています。しかし、BMP/SMAD経路の機能異常をもつ保因者に対する治療法など、BMP/SMAD経路との関係に踏み込んだ治療法はいまだ開発途上でした。今回の成果は、肺動脈性肺高血圧症の新規治療法開発に大きく貢献することが期待されます。

シグナル伝達研究から病態解明・治療法開発へ

この研究は、スウェーデン・ウプサラ大学の Carl-Henrik Heldin 教授との長年にわたる共同研究で進められました。Heldin 教授は、BMPを含む TGF- β ファミリーのシグナル伝達経路に関して多くのことを明らかにした、この分野の中心的人物の1人です。

多くの疾患でTGF-β/BMPファミリーのシグナルの異常が明らかになっています。しかし、多彩な機能を持つサイトカインである、ということの裏返しで、例えばこの経路の阻害剤が目的とする組織・臓器以外の部分でも作用して副作用を生じるなど、臨床応用には障害が多いです。シグナル伝達経路の解析というと少し「古い」印象になりますが、シグナル伝達の詳細を解析することで疾患特異的な新たな標的を同定し、治療法開発につなげていきたいと考えています。

写真:ウプサラ大聖堂(ウプサラ大学構内より撮影)



動的なパルミチン酸化がDKK1受容体である CKAP4およびLRP6のマイクロドメインの局在を 制御している

Dynamic palmitoylation controls the microdomain localization of the DKK1 receptors CKAP4 and LRP6

木村 公一1 深田 優子23 深田 正紀23 山本 英樹1

¹ 大阪大学大学院 医学系研究科 分子病態生化学 ² 自然科学研究機構 生理学研究所 生体膜研究部門 ³ 総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学専攻



左から菊池 章、佐田 遼太

菊池 章 Akira Kikuchi 大阪大学大学院 医学系研究科 分子病態生化学 教授

佐田 僚太 Ryota Sada

大阪大学大学院 医学系研究科 分子病態生化学

Contact

菊池 章 E-mail: akikuchi@molbiobc.med.osaka-u.ac.jp **所在地**:565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2

URL: http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molbiobc/ 佐田 僚太 E-mail: sadaryouta@molbiobc.med.osaka-u.ac.jp

Dickkopfl (DKK1)は、Wnt 共受容体であるLow-density lipoprotein receptor-related protein 6(LRP6)に結合し、 エンドサイトーシスを誘導する結果、Wntシグナルを阻害するアンタゴニストとして同定された。私共はこれまでにDKK1の 第2の受容体としてCytoskeleton-associated protein 4(CKAP4)を同定した。DKK1とCKAP4は複数のヒトがんにお いて高発現しており、DKK1-CKAP4シグナルはPI3K-AKT経路を介してがん細胞増殖を促進した。本研究において私 共は、DKK1受容体であるCKAP4とLRP6が主に細胞膜の脂質ラフトにパルミチン酸化依存性に局在すること、CKAP4 のパルミチン酸化がDKK1-CKAP4シグナルによるがん細胞増殖に必要であることを見出した。DKK1はacylprotein thioesterase 1(APT1)によるCKAP4とLRP6の脱パルミチン酸化を誘導し、脱パルミチン酸化された両受容体は脂質ラ フトから非脂質ラフトに移動した。DKK1刺激時にCKAP4の脱パルミチン酸化を阻害すると、PI3K-AKT経路の活性化 が遷延したことから、CKAP4の脱パルミチン酸化および脂質ラフトからの移動がDKK1-CKAP4シグナルの遮断に必要で あることが示唆された。また、DKK1刺激によるAPT1を介した両受容体の脱パルミチン酸化は、PI3K-AKT経路の活性 化に依存したことから、ネガティブフィードバック機構の存在が示唆された。さらに、DKK1はCKAP4とLRP6に同時に結 合することが可能で、三者複合体が形成された。LRP6のノックダウンにより、DKK1-CKAP4シグナルを介したAKTの活 性化およびがん細胞の増殖が低下したが、CKAP4のノックダウンは、LRP6を介したWntシグナルのDKK1依存性阻害 に影響しなかった。これらの結果から、CKAP4およびLRP6のパルミチン酸化状態がそれぞれのシグナル伝達に重要な役 割を果たしていること、LRP6がDKK1-CKAP4シグナル伝達を増強することが明らかになった。

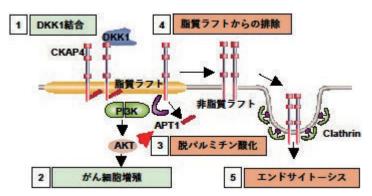


図1:パルミチン酸化依存性の受容体局在制御を介したDKK1 シグナルの活性制御機構

脂質ラフトにおいてCKAP4にDKK1が結合すると、PI3K-AKT 経路が活性化され細胞増殖が促進されるとともに、APT1が活性 化され、CKAP4の脱パルミチン酸化と脂質ラフトから非脂質ラ フトへの移動が起こる。

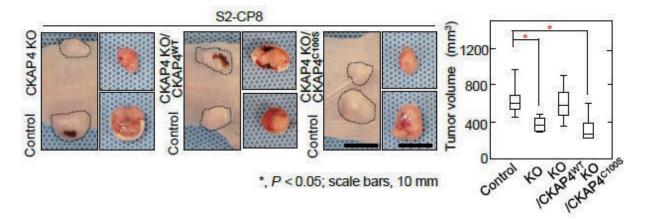


図2:パルミチン酸化欠損変異体CKAP4^{c100s}発現細胞を用いた皮下腫瘍形成実験

ヒト膵癌由来 S2-CP8 細胞の CKAP4をノックアウトすると皮下腫瘍形成能が低下した。本表現型は野生型 CKAP4 発現でレスキューされたが、パルミチン酸化欠損変異体 CKAP4 CKAP4 ではされなかった。

DKK1 受容体のパルミチン酸化制御による シグナル活性調節機構

私共はWntアンタゴニストである分泌タンパク質DKK1の新規細胞膜受容体としてCKAP4を同定し、DKK1-CKAP4シグナルが、PI3K-AKT経路の活性化を介してがん細胞増殖を促進することを明らかにしました。CKAP4はパルミチン酸化修飾を受けることが報告されていましたが、DKK1-CKAP4シグナルにおける意義は不明でした。一方、DKK1受容体としては、元来LRP6が知られていました。私共はこれまでにLRP6が細胞膜の脂質ラフトに局在すること、DKK1が結合することによりLRP6が脂質ラフトから非脂質ラフトへ移動することを報告していました。しかし、LRP6の細胞膜上での脂質ラフトと非脂質ラフトへの局在制御機構はこれまで明らかとなっていませんでした。

本研究において私共は、DKK1受容体であるCKAP4とLRP6がいずれもパルミチン酸化を介して細胞膜脂質ラフトへ局在していること、および、DKK1と結合することでこれらの受容体が脱パルミチン酸化されることにより、脂質ラフトから非脂質ラフトに移動する分子機構を明らかにしました。さらに、パルミチン酸化依存性に脂質ラフトに局在することが、CKAP4とLRP6のシグナル伝達に重要であること、DKK1の異なる部位を介してCKAP4とLRP6が結合し三量体を形成すること、ならびに、LRP6がCKAP4を介するDKK1シグナルを増強することを明らかにしました。リガンドが結合することにより、脱パルミチン酸化を介した受容体の細胞膜上の局在変化が起こり、シグナル活性が制御される機構が分子レベルで明らかになった点で、新規性が高いと考えています。

私共はこれまでにヒトがん組織検体の免疫組織学的検討において、DKK1とCKAP4の両タンパク質が、膵がん、肺がん、食道がんにおいてがん組織特異的に発現しており、両タンパク質が発現している症例はそれ以外の症例に比して予後不良であることを明らかにしました。さらに、私共が作製した抗CKAP4モノクローナル抗体がCKAP4に対して中和活性を示し、DKK1-CKAP4シグナルを抑制し、がん細胞増殖を阻害することを示しました。今回、私共はDKK1シグナルの活性制御機構におけるCKAP4のパルミチン酸化の意義を明らかにしました。今後は、実臨床への応用も視野に入れ、DKK1およびCKAP4のがん組織における発現機構やDKK1-CKAP4高発現腫瘍の早期診断法、抗CKAP4抗体による分子標的治療などの研究を進めていくことを予定しています。

研究室紹介

私共の教室では細胞シグナル伝達機構を、遺伝的変化や組織微小環境変化により細胞や個体の表現型を規定する生体システムとしてとらえて、Wntシグナルを含めた多様な経路が細胞の増殖や分化、運動、組織構築、臓器形成等を調整する分子基盤を確立しようとしています。また、シグナル伝達機構の異常による疾患(特にがん)発症のメカニズムを明らかにして、診断や治療への応用も視野に入れた研究を展開しています。若い研究者の方には、技術革新に伴い新たに見えてきた生命現象を取り入れながら、フューチャーインパクトのある研究を展開することを期待しています。

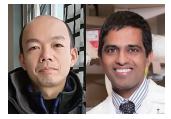


膵β細胞におけるハイプシン生合成は、ポリアミン代謝と条件的な 細胞増殖を関連付け、グルコース恒常性の維持に寄与する

Hypusine biosynthesis in β cells links polyamine metabolism to facultative cellular proliferation to maintain glucose homeostasis

Esther M. Levasseur^{1,2} Annie R. Piñeros^{1,3} Wenting Wu^{1,4} Farooq Syed^{1,3} Kara S. Orr^{1,3} Emily Anderson-Baucum⁵ Teresa L. Mastracci^{2,5} Bernhard Maier⁶ Amber L. Mosley² Yunlong Liu⁴ Ernesto Bernal-Mizrachi⁷ Laura C. Alonso^{8,†} Donald Scott⁹ Adolfo Garcia-Ocaña⁹ Sarah A. Tersey^{1,5}

- ¹ Center for Diabetes and Metabolic Diseases, Indiana University School of Medicine
- ² Department of Biochemistry and Molecular Biology, Indiana University School of Medicine
- Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine
- Department of Medical and Molecular Genetics. Indiana University School of Medicine
- ⁵ Indiana Biosciences Research Institute
- Department of Medicine, Indiana University School of Medicine
- Department of Medicine, University of Miami
- Department of Medicine, University of Massachusetts Medical School
- 9 Diabetes, Obesity, and Metabolism Institute and the Mindich Child Health and Development Institute, Icahn School of Medicine at Mount Sinai
- † 現 Department of Medicine, Weill Cornell Medical College



左から山田 健太郎 Raghavendra G. Mirmira

山田 健太郎 Kentaro Yamada

Center for Diabetes and Metabolic Diseases, Indiana University School of Medicine Research Associate, Diabetes Research Program, Herman B Wells Center for Pediatric Research/Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine (現 Research Associate, Gene and Cell Therapy Program, Herman B Wells Center for Pediatric Research/Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine)

Raghavendra G. Mirmira

Professor, Department of Pediatrics, Indiana University School of Medicine Professor, Department of Medicine, Indiana University School of Medicine Director, Herman B Wells Center for Pediatric Research

Director, Center for Diabetes and Metabolic Diseases, Indiana University School of Medicine (現 Professor of Medicine/Director of the Translational Research Center/Kovler Diabetes Center/Department of Medicine, University of Chicago)

Contact

E-mail: yamadak@iu.edu

所在地: 1044 W Walnut St, Indianapolis, IN 46202, USA URL: https://medicine.iu.edu/faculty/19885/yamada-kentaro/

Raghavendra G. Mirmira

E-mail: rmirmira@medicine.bsd.uchicago.edu 所在地: 900 E 57th St, #8130, Chicago, IL 60637, USA

URL: http://med-faculty.bsd.uchicago.edu/Default/Details/17285

デオキシハイプシン合成酵素(DHPS)は、ポリアミンのスペルミジン を利用してmRNA 翻訳因子eIF5Aのハイプシン修飾を触媒し、 発がんを促進するが、その仕組みはよくわかっていない。Dhps遺 伝子の生殖系列欠損は胚性致死であるため、生後の通常の細胞 機能におけるDhps遺伝子の役割は、依然として不明である。われ われは、グルコース恒常性の維持に必須の役割を果たす膵β細胞 において、生後特異的に、Dhps遺伝子を誘導的に欠損させること が可能なマウスモデルを作製した。通常の生理的条件下では、 Dhps遺伝子を失うことによる影響は認められなかった。しかし、β 細胞増殖を誘導する、インスリン抵抗性の発生時には、Dhbs遺伝 子の欠損によって、mRNA 翻訳とタンパク質分泌に必要なタンパク 質群に変化が現れ、細胞周期制御因子サイクリンD2の産生が低 下し、β細胞の増殖が損なわれた上、顕性の糖尿病が誘発され た。さらに、われわれは、ハイプシン生合成がプロテインキナーゼ C-ζの下流に位置し、c-Myc 依存的に誘導される細胞増殖に必要 であることを見出した。本研究により、膵 β 細胞において、DHPSが ポリアミンとmRNA翻訳を関連付け、条件的な細胞増殖とグルコー ス恒常性の維持に必要とされることが明らかになった。

Figure and Note

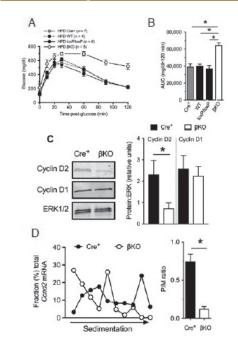


図1: インスリン抵抗性条件下における、β細胞特異的 DHPS 欠損マウスのグルコース耐性能の低下、および、サイクリンD2 mRNA 翻訳レベルの減少

(A, B)インスリン抵抗性条件下で、β細胞特異的 DHPS 欠損マ ウスでは、正常なグルコース耐性が損なわれた。(C) サイクリン D2タンパク質レベルの低下が観察された。(D) ポリリボソーム・ プロファイル解析により、サイクリンD2 mRNA翻訳の低下が示 された。

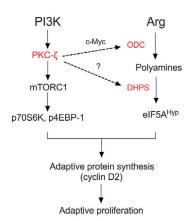


図2:本研究で提唱するシグナル経路のモデルポリアミン代謝、PKC-ζ、c-Mycが連携し、細胞周期制御因子サイクリンD2タンパク質の産生、そして、適応性β細胞の増殖を推進する。

適応性β細胞増殖におけるポリアミン・ハイプシンの役割

糖尿病は、その発症の機序により、1型糖尿病と2型糖尿病の2種類に大きく分類されます。糖尿病の発症に関連する因子は多岐にわたりますが、1型と2型、いずれの糖尿病においても、発症の要因として共通するのは、インスリンを産生・分泌する、膵臓ランゲルハンス島のβ細胞(以後、β細胞と表記)の機能不全、あるいは破壊です。そこで、糖尿病の有効な治療法のひとつとして、β細胞の容積や機能の回復が考えられてきました。しかし、β細胞は高度に分化した細胞で、成体においてβ細胞の分裂・増殖が観察されることは非常にまれです。したがって、糖尿病の研究において、β細胞増殖の仕組みの解明は非常に重要な課題です。

ポリアミンは、細胞増殖をはじめとして、多くの基本的な細胞機能に関与し、重要な役割を果たします。例えば、がん細胞では、細胞内ポリアミンの増加や、ポリアミン生合成経路の中心酵素であるオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の活性上昇が報告されています。デオキシハイプシン合成酵素(DHPS)は、ポリアミンであるスペルミジンを利用して、mRNA翻訳因子eIF5Aのハイプシン修飾を触媒し、細胞の増殖およびがん化を促進しますが、その仕組みはよくわかっていません。Dhps遺伝子の生殖系列欠損は胚性致死であるため、成体内での通常の細胞機能におけるDhps遺伝子の役割も、これまでよくわかっていませんでした。

上に述べたような背景の下、私たちは、DHPSがβ細胞の増殖にも重要な役割を果たすのではないかと考え、今回の研究を始めました。まず、β細胞のみにおいて、生後特異的に、Dhps遺伝子を誘導的に欠損させることが可能なマウス(以後、 $Dhps^{AB}$ マウスと表記)を作製しました。 $Dhps^{AB}$ マウスは、通常の生理的条件下においては、グルコース恒常性の維持に特に問題を示しませんでした。インスリン抵抗性が誘発される特定の条件下では、わずかながら、β細胞の増殖が検出されます(適応的β細胞増殖)。 $Dhps^{AB}$ マウスをインスリン抵抗性が誘発される特定の食餌条件下で飼育すると、グルコース耐性能の低下が見られました(図1A,B)。さらに、 $Dhps^{AB}$ マウスでは、適応的β細胞増殖が損なわれることがわかりました。RNA-seqおよびプロテオミクス解析によると、 $Dhps^{AB}$ マウスでは、細胞周期制御およびタンパク質合成・輸送・分泌に関与するシグナル経路が大きな影響を受けていました。そこで、β細胞において重要な細胞周期制御因子であるサイクリンD2について調べると、サイクリンD2のタンパク質レベルの減少(図1C)、mRNA翻訳の低下(図1D)が観察されました。以上の結果と、ヒトおよびマウス由来のランゲルハンス島を利用した試験管内での解析結果から、DHPSによるハイプシン生合成を橋渡しとして、ポリアミン代謝、プロテインキナーゼC-C、c-Mycが連携し、適応的β細胞増殖を促進するというモデル(図2)が提唱されます。

まとめると、私たちは、生体内において、DHPSが適応的β細胞の増殖に必要であることを明らかにしました。本研究により得られた知見は、β細胞の容積や機能の回復による糖尿病治療法の開発・改良に寄与すると期待されます。

膵β細胞に焦点を当てながら、多様な観点から新しい糖尿病の 診断法および治療法の開発を目指す

インディアナ大学医学部の糖尿病・代謝疾患センターは、米国立糖尿病・消化器・腎疾病研究所 (NIDDK)からの大型研究費によりサポートされる、全米に16ある糖尿病研究センターのひとつです。グループには文字通り世界中から基礎、臨床、あるいは両方の、多様なバックグラウンドを持つ研究者が集い、日々活発な研究活動を行っています。Mirmira研究室では、膵β細胞に焦点を当て、ヒト由来のサンプル、マウス、ゼブラフィッシュ、培養細胞等、複数のモデルを利用しながら、1)β細胞におけるポリアミン代謝および mRNA 翻訳因子 eIF5A の役割とその仕組み、2)小胞体ストレス、酸化ストレス等、β細胞におけるストレス応答の仕組みとその制御、3)糖尿病の早期発見・診断を目指したバイオマーカーの探索・同定と、多様な観点から糖尿病研究に取り組んでいます。なお、Mirmira研究室は2019年11月にシカゴ大学へ移転しました。引き続きインディアナ大学の糖尿病研究グループと密な連携を保ちながら、新天地で研究活動を開始しています。



DishevelledとAxinのDIXドメイン間の 直接的なヘテロタイプ相互作用がβ-cateninへの シグナル伝達を媒介する

A direct heterotypic interaction between the DIX domains of Dishevelled and Axin mediates signaling to β-catenin

山西 勲平¹ Marc Fiedler² 寺脇 慎一³ Mariann Bienz²

¹ 兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 ピコバイオロジー専攻 ² Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology ³ 群馬大学大学院 理工学府 分子科学部門



左から柴田 直樹、桶口 芳樹

柴田 直樹 Naoki Shibata

兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 ピコバイオロジー専攻 准教授

樋口 芳樹 Yoshiki Higuchi

兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 ピコバイオロジー専攻 教授

Contact

柴田 直樹 E-mail: shibach@sci.u-hyogo.ac.jp

所在地:678-1297 兵庫県赤穂郡上郡町光都3-2-1

 $\textbf{U} \ \textbf{R} \ \textbf{L} : \text{https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/biophys1/index-j.html}$

樋口 芳樹 E-mail: hig@sci.u-hyogo.ac.jp

Wnt-β-catenin シグナル伝達経路は、動物界全体にわたって発生と組織恒常性を調節する。この経路を介するシグナル伝 達は、2つの細胞質タンパク質複合体の相反する活性に決定的に依存する。すなわち、下流のエフェクターである β-cateninを不安定化させる Axin 破壊複合体と、Axin 複合体を不活性化することによって、β-catenin が核内に集積して 転写スイッチを操作できるようにするDishevelled シグナロソームの2つである。これらの複合体は、AxinまたはDishevelled それぞれのDIXドメインが動的に前部・後部重合することによって構築され、シグナル伝達エフェクターとの親和性を高め る。Axinは、そのDIXドメインを介してDishevelledとも結合する。今回われわれは、AxinとDishevelledの2つのDIXド メイン間に形成される、ヘテロ二量体複合体の結晶構造を報告する。このヘテロ二量体の相互作用面は、それぞれのホ モポリマーの相互作用面に類似するが、静電相互作用と水素結合のわずかな再編成を有し、ヘテロタイプの相互作用が ホモタイプのAxin-DIX相互作用より有利であることと一致している。最後に、細胞ベースのシグナル伝達アッセイによって、 DIXに変異を持つ不活性Dishevelledに異種重合ドメインを融合すると、Axinに結合できるDIX前部または後部表面を 保持していれば、異種重合ドメインがDishevelled-DIXの働きと活性を回復することが示された。これらの結果から、 DishevelledとAxinのDIXドメインを介する相互作用が、β-cateninへのシグナル伝達に重要であることがわかる。

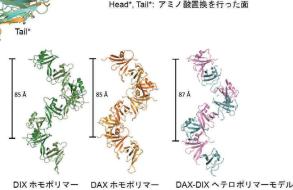
Figure and Note

DAX-DIX 二量体 DIX ホモポリマー (2 分子のみ表示) DAX ホモポリマー (2 分子のみ表示) Head, Tail: アミノ酸置換を行っていない面 Head*, Tail*: アミノ酸置換を行った面

図1:DAX-DIX二量体とDIXおよびDAXとの構造比較

(A) DAX-DIX 二量体とDIX および DAX ホモポリマーの重ね合 わせ。DIX および DAX ホモポリマーは2分子のみを表示。

(B) DAX-DIX ヘテロポリマーモデルとDIX ホモポリマーおよび DAXホモポリマーの構造。



В

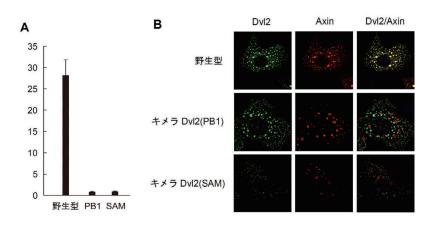


図2: キメラDvIの活性(A) および細胞内でDvIと Axinが局在する様子(B)

(A)PB1とSAMはそれぞれキメラDvI2(PB1)、キメラDvI2(SAM)を表す。

(B) 野生型Dvl2はAxinと共局在する(上段右)が、キメラDvl2(PB1)とキメラDvl2(SAM)では共局在しない(中段右と下段右)。

Wntシグナル因子のポリマー化がシグナル調節の鍵を握る

Wnt/β-cateninシグナル伝達経路(Wntシグナル)は、細胞の増殖・分化などを制御しており、分泌タンパク質Wnt が受容体に結合しクラスター化することでシグナルが細胞内に伝達されます。本研究グループは、Wntシグナルの重要な細胞内因子のひとつであるDishevelled (Dvl)のポリマー化がWnt/受容体複合体のクラスター化によって促進されることがきっかけとなり、シグナルが伝達されるモデルを提唱しています。Dvlのポリマー化はDIXドメイン(DIX)が担い、DIX 欠失変異体はシグナル活性を示しません。また、DvlはDIXを介してWntシグナルを抑制する負因子Axinに結合し、その働きを抑えることで、シグナルを活性化します。AxinにもDIXドメイン(DAX)がありDIX-DAX相互作用がDvl-Axinの結合に必須と考えられてきましたが、その詳細は明らかではありませんでした。

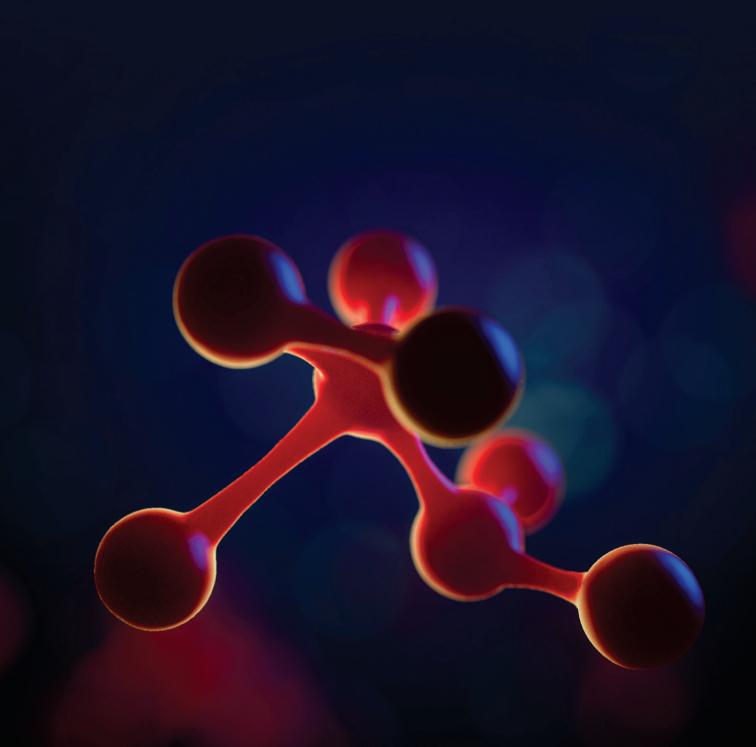
今回、DAX-DIX複合体(DAX-DIX二量体)の立体構造を決定し、DAX-DIX二量体がDAXの後部(Tail)とDIXの前部(Head)接触面同士が結合していることを明らかにしました。DAX-DIX二量体ではDIXやDAXのホモポリマーにおける連続する2分子とよく重なり合いますが、DIXドメイン間の相互作用様式は異なっていました。この構造から、これらホモポリマーに似たヘテロポリマーが形成されることが示唆されます。次に、DIX-DAX相互作用がシグナル活性に必須であることを明らかにするため、DIXを他のポリマー化ドメイン(SAMおよびPBI)に置換(キメラDvl2(PBI)、キメラDvl2(SAM))したところ、どちらもシグナル活性を示しませんでした。また、DIXに変異を導入しDvlのポリマー化を抑制するとシグナル活性を失いますが、PBIやSAMを融合しポリマー化させると活性が回復しました。一方、DvlとAxinは同じ場所に局在(共局在)する性質があります。これらキメラDvl2は、Axinとは共局在しなかったことから、Axinとは相互作用しないことがわかりました。以上の結果から、Dvlのシグナル活性にはDIX-DAX相互作用が必要であることが明らかになりました。

Wnt標的遺伝子の多くはがんに関係しており、シグナル制御に異常があると細胞のがん化の原因になる可能性があります。DIXによるホモポリマー化を阻害すればWntシグナル活性が弱くなるため、がん細胞の増殖を抑えることが可能になります。DIXホモポリマーだけに作用し、DAX-DIXヘテロポリマーやDAXホモポリマー形成を抑制しない物質を創製するためには、ヘテロポリマーとホモポリマーにおけるDIXドメイン間の相互作用の違いを考慮することが必要です。今回のDAX-DIX二量体の立体構造は、その際の重要な情報となると期待されます。

兵庫県立大学大学院 生命理学研究科 生体物質構造学I分野

私たちは、X線結晶解析という手法を用いて原子のレベルで、タンパク質の「形(立体構造)」を明らかにし、その「働き(機能)」を理解することを最初の目標とします。この研究手法は構造生物学、あるいはタンパク質結晶学と呼ばれる基礎科学の研究分野に分類されます。これは遺伝子からつくられるタンパク質の「働き」を解明するために最も成力を発揮する研究手法です。この結果は病気の原因をつきとめたり、薬剤や触媒などの化合物の設計や合成に役立ちます。





Publish your research in the Science family of journals

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

Submit your research today!Learn more at **ScienceMag.org/journals**



SOMETIMES THE GRASS REALLY IS GREENER SOMEPLACE NEW.

Find your next job at ScienceCareers.org

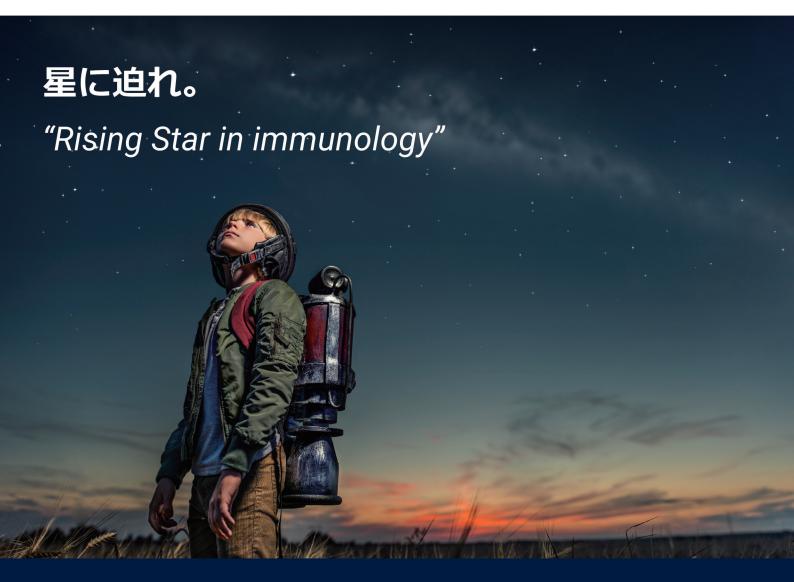
There's scientific proof that when you're happy with what you do, you're better at what you do. Access career opportunities, see who's hiring and take advantage of our proprietary career-search tools. Get tailored job alerts, post your resume and manage your applications all in one place. Start here: sciencecareers.org



FROM THE JOURNAL SCIENCE







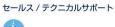
無数のシグナリング分子から、 『希望の星』を探すために。

私たち、プロテインテックは 科学者の大きな発見を支援できること を大変嬉しく思います。

2020年も、未来の可能性を広げる細胞マーカーを提供し続けます。



Proteintech Group, Inc. は、過去 3 年間(2015-2017)で 論文引用数が最も増加した抗体サプライヤーに贈られる *"Rising Star in Immunology"* を受賞しました。 (英 CiteAb 主催:2019 CiteAb awards)











抗体层形

■ 探しま章¬ Web 検索データベース

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

■ 作りま章 | 抗体作製受託サービス

お客様とのコミュニケーションを大切にし、高い技術力であらゆるニーズに対応。



■ファースト抗体

エピトープデザインからペプチド合成、 免疫までを安価にトライ

■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 ■ 翻訳後修飾アミノ酸抗体作製

リン酸化を含む修飾アミノ酸に対する ポリクローナル抗体を作製

■ モノクローナル抗体作製

成果保証の有無を選択可能、 成果品の権利はすべてお客様に帰属

コスモ・バイオの抗体百科に Go!

www.cosmobio.co.jp

ペプチド合成 受託サービス





たとえば…

- 蛍光色素やリン酸化など様々な修飾
- 文献に掲載のある市販されていないペプチド
- 合成難易度の高い、環状化、ステープル化など特殊な構造のペプチド

詳細は、コスモ・バイオのトップページ「記事 ID 検索」(17259)クリック!

「ペプチドン」

コスモ・バイオ オリジナルキャラクタ

■ 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 ● NEW! 配列デザインから合成までの一貫サービス

詳細は、コスモ・バイオのトップページ「記事 ID 検索」(17260) クリック!

● Web ページに記載のないサービスや 他社で断られた仕様なども、お気軽にご相談ください。E-mail: peptide-ab@cosmobio.co.jp



コスモ・バイオは、

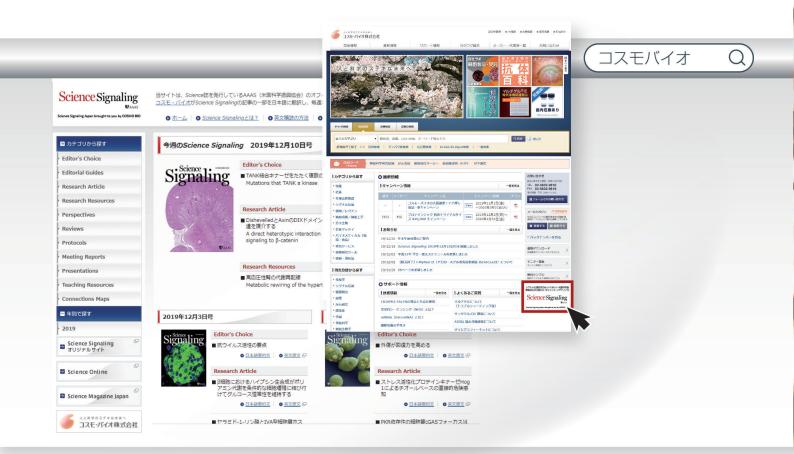
Science Signaling o

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



Science Signaling とは?

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

投稿受付中!

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

