

寿命と発生を制御するシグナル伝達ネットワーク

Signal transduction networks regulating life span
and development

西田 栄介 (NISHIDA EISUKE)

京都大学・大学院生命科学研究所・教授



研究の概要

多細胞生物の時間軸に沿った生命現象である寿命と発生を制御する分子機構に、細胞内シグナル伝達ネットワークの解明を通してアプローチする。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：細胞情報伝達機構

1. 研究開始当初の背景

細胞内シグナル伝達ネットワークは、様々な生命現象を制御する重要な役割を担っている。ヒトやモデル生物のゲノムプロジェクトが完了した現在、個々の遺伝子の機能や遺伝子間の機能的な関連を解析することが重要な課題となっている。近年盛んに行われている大規模解析により遺伝子に関する膨大なデータが蓄積されてきてはいるが、シグナル伝達という観点から見ると、その全貌解明にはまだまだ至っていないのが現状である。したがって、これら膨大なゲノムデータを有効に活用しつつ、個々のシグナル伝達経路がどのように関連しあるいは協調しながら高次生命現象を制御しているかを明らかにすることは、生命現象の根本原理に迫るうえで極めて重要である。

2. 研究の目的

本研究では、寿命や発生といった多細胞生物の時間軸に沿った生命現象に注目し、モデル生物を用いた多方面からのアプローチにより、新たな細胞内シグナル伝達分子や経路の同定、および種々のシグナル伝達経路間におけるネットワークを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

第一に、寿命および発生を制御するシグナル伝達経路について、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析、バイオインフォマティクスによるプロモーター解析、変異体や RNAi 法による体系的スクリーニング、MO (モルフオリノ) を用いたノックダウン実験等を駆使することによって、新規シグナル伝達分子や新規シグナル伝達経路の同定を行うことを目的とする。第二に、同定したシグナル伝達経路や既知のシグナル伝達経路間における相互作用を検討し、寿命や発生といった高次生命現象という観点からシグナル伝達経路のネットワークを明らかにすることを目指す。

4. これまでの成果

線虫を用いて寿命制御の分子機構の解析を行なった。最初に、寿命を正に制御すると考えられている生命現象の一つであるオートファジーに着目した。今までの研究では、数多くのオートファジー関連遺伝子群のうち寿命研究の対象とされたのは一部の遺伝子だけだった。そこで我々は、関連する全遺伝子を網羅的にノックダウンして寿命への影響を調べた。発生時期からのノックダウン実験では多くの場合寿命が短縮したが、発生完了後にノックダウンした場合には、寿命の

延長が観察される遺伝子が多かった。以上の結果は、オートファジーは単純に寿命を正に制御しているのではなく、組織や発生過程などによって寿命に与える影響が変わってくることを示唆しており、これまでの定説に再考を促すものである。さらに我々は、ERK MAPキナーゼ経路関連分子群の体系的な RNAi によって、ERK シグナルカスケードが寿命を正に制御していることを見出した。さらに既知の寿命制御因子とのクロストークについて検討を行い、SKN-1 (ストレス存在下で活性化される転写因子 Nrf2 の線虫ホモログ) の上流で、ERK シグナルカスケードが働くことが分かった。さらに、SKN-1 がインスリン様受容体の上流で働いていること、ERK が SKN-1 のセリン残基をリン酸化すること、SKN-1 が一部のインスリン様ペプチドの転写を制御することを見出し、ERK が寿命を制御する一連の分子機構を明らかにすることに成功した。また、飢餓による遺伝子発現の変化をバイオフィンマティクスにより解析し、食餌制限による寿命延長に関与している経路を新たに同定した。

アフリカツメガエル初期胚発生において、未分化外胚葉から分化した表皮・神経の細胞死を防ぐため、内胚葉特異的に発現するプロテインキナーゼ SGK1 が多段階の non-cell-autonomous なシグナル伝達経路 (SGK1/ NF- κ B / BMP7 / DISC 経路) を経て表皮・神経の生存を促進することを発見した。この研究成果は、胚葉を越えて細胞生存を促進する細胞間シグナル伝達を初めて同定したものである。さらに、アフリカツメガエル初期胚外胚葉において ERK 経路により転写抑制を受ける遺伝子をマイクロアレイにより多数同定した。そのうち新規の 1 回膜貫通型タンパク質をコードする EIG121L が、腹側外胚葉に特異的に発現し外胚葉の表皮への分化を促進することを見出した。そして EIG121L が BMP 受容体と結合することにより BMP 刺激に対する感受性を増大させていることを示した。他に ERK 経路により転写抑制を受ける遺伝子として、KCTD15 を見出した。KCTD15 は、神経堤、プラコード、蓋板に特異的に発現し、外胚葉の神経・神経堤への分化を負に制御することを見出した。

筋肉分化過程のうち筋融合に特異的に関係する経路 (ERK5 / Sp1 / Klf / Npnt 経路) を同定した。従来は、マスター転写因子 MyoD の下流で筋分化の全過程が不可分に進行すると考えられていたため、融合のみを特異的に制御する経路の発見はこれまでの常識を覆す斬新な知見である。

哺乳類小腸上皮細胞の系において、Hippo シグナル伝達経路の下流で機能する転写制御因子 YAP/TAZ が Wnt/beta-catenin 経路によって駆動される転写を制御する分子機

構を解明した。

5. 今後の計画

マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析、バイオフィンマティクスによるプロモーター解析、変異体や RNAi 法による体系的スクリーニング等によって、食餌制限による寿命延長の分子機構、初期胚発生・器官形成の分子機構、シグナル伝達経路間のクロストークの分子機構にアプローチする。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Imajo, M., Miyatake, K., Iimura, A., Miyamoto, A., and Nishida, E. A molecular mechanism that links Hippo signalling to the inhibition of Wnt/beta-catenin signalling. *EMBO J.* 31, 1109-1122 (2012).

Sunadome, K., Yamamoto, T., Ebisuya, M., Kondoh, K., Sehara-Fujisawa, A., and Nishida, E. ERK5 regulates muscle cell fusion through Klf transcription factors. *Dev. Cell* 20, 192-205 (2011).

Endo, T., Kusakabe, M., Sunadome, K., Yamamoto, T., and Nishida, E. The kinase SGK1 in the endoderm and mesoderm promotes ectodermal survival by down-regulating components of the death-inducing signaling complex. *Sci. Signal.* 4, ra2 (2011).

Araki, T., Kusakabe, M., and Nishida, E. A transmembrane protein EIG121L is required for epidermal differentiation during early embryonic development. *J. Biol. Chem.* 286, 6760-6768 (2011).

Okuyama, T., Inoue, H., Ookuma, S., Satoh, T., Kano, K., Honjoh, S., Hisamoto, N., Matsumoto, K., and Nishida, E. The ERK-MAPK pathway regulates longevity through SKN-1 and insulin-like signaling in *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.* 285, 30274-30281 (2010).

等

受賞

平成 21 年度上原賞 (2009 年度)

2010 年度武田医学賞 (2010 年度)

平成 22 年 紫綬褒章 (2010 年度)

ホームページ等

<http://www.lif.kyoto-u.ac.jp/labs/signal/>