

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和2（2020）年度 研究進捗評価用〕

平成29年度採択分
令和2年3月31日現在

オルガネラ膜特異的脂質環境の細胞内情報発信プラットフォームとしての新機能の解明

The roles of membrane lipids for intracellular signaling platform

課題番号：17H06164

新井 洋由（ARAI, HIROYUKI）

東京大学・大学院医学系研究科・客員研究員



研究の概要（4行以内）

本研究では、リン脂質特異的プローブと近傍タンパク質ビオチン化法を用いた新規手法を駆使し、細胞内シグナル分子とオルガネラ膜脂質との予想外の相互作用を解析する事により、「オルガネラ膜特異的脂質環境の細胞内情報発信プラットフォームとしての新機能」を解明し、細胞内オルガネラ膜の新たな機能を確立する。

研究分野：生物学、生物科学、機能生物化学

キーワード：細胞情報伝達機構、脂質生物学

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む真核生物は、細胞の中に生体膜で囲まれた細胞小器官(オルガネラ)を有する。この細胞内の各オルガネラはそれぞれ特徴的な膜脂質組成を持つことが近年明らかとなってきた。一方で、このオルガネラ特異的な脂質組成がどのような生命現象に関与するか、またどのようなメカニズムで機能を発揮するか、などに関してはまだ不明な点が多く残されている。一方で細胞内のオルガネラとは異なり、細胞膜表面においてはその解析のしやすさから、膜脂質環境が受容体やそのアダプタータンパク質の機能に重要な役割を果たすことが明らかになってきている。このことから、細胞内のオルガネラに関しても同様に膜脂質環境が様々な細胞内情報伝達に関与すると予想された。

2. 研究の目的

申請者はこれまでに脂質生物学的手法と細胞生物学的的手法を用いた解析から、リン脂質特異的新規プローブを開発し、細胞内のリン脂質の局在及びその機能を明らかにしてきた。本研究課題においては、申請者のこれまでの研究とプロテオミクスを用いた手法を組み合わせることで、「オルガネラ膜特異的脂質環境の細胞内情報発信プラットフォームとしての新機能」を解明し、細胞内オルガネラ膜の新たな機能を確立する。

3. 研究の方法

申請者は特異的脂質認識プローブと近傍タンパク質ビオチン化タグを利用して、その脂質が局在するオルガネラのタンパク質を網羅的に同定する手法を開発している。この手法により、これまで生化学的単離が困難であった細胞内オルガネラ膜における局在分子、相互作用分子を網羅的に同定することが可能となった。本研究課題においては、その中で細胞内シグナル発信・伝達に関わる分子に焦点を当て、オルガネラ膜(あるいは膜の特定の脂質ドメイン)との相互作用を探りながら、シグナル発信・伝達におけるオルガネラ膜ドメインのプラットフォームとしての分子機構を解明する。

4. これまでの成果

本研究の目的を達成するためにオルガネラ特有の脂質をターゲットとした近傍タンパク質ビオチン化法を開発した。既に、リサイクリングエンドソーム、ゴルジ体、初期エンドソーム膜、マクロピノサイトーシス時ラッフル膜等を選択的にビオチン化できることを確認している。リサイクリングエンドソーム、ゴルジ体、初期エンドソーム膜に関してはビオチン化された各オルガネラ膜近傍タンパク質の同定も終えている。

特に研究が進んでいるリサイクリングエンドソーム膜のホスファチジルセリン近傍分

子に関しては機能解析を行い、リサイクリングエンドソーム上のホスファチジルセリンが Hippo-YAP 経路を制御することを見出した。同定したホスファチジルセリン近傍タンパク質を手掛かりに分子機構を解析した結果、リサイクリングエンドソームのホスファチジルセリンが Evectin-2 というタンパク質を介して Nedd4 E3 リガーゼを活性化し、この Nedd4 E3 リガーゼが Hippo キナーゼである Lats をユビキチン化してプロテアソーム分解に導いていることが明らかとなった。さらに、このリサイクリングエンドソームにおけるホスファチジルセリンを介した Hippo-YAP 経路の制御機構は、悪性乳がん細胞の増殖を抑制する創薬標的となり得ることを見出した。以上の結果を本研究の成果として論文発表を行なった (Matsudaira & Mukai et al., *Nat Commun* 2017)。

また、ゴルジ体膜上で活性化する STING に関しても、ゴルジ体/小胞体膜上での活性制御機構 (Ogawa & Mukai et al., *BBRC* 2018)、およびニトロ化不飽和脂肪酸によるゴルジ体の STING のパルミトイル化阻害機構を明らかにした (Hansen et al., *PNAS* 2018)。

さらに、小胞体の膜リン脂質が制御するシグナル伝達機構として、マスト細胞が小胞体上の酸化リン脂質の分解を介して脱顆粒シグナルを制御していることを明らかにした (Shimanaka & Kono et al., *Nat Med* 2017)。また、小胞体から Osh ファミリータンパク質によって輸送されたホスファチジルセリンとステロールが、細胞膜上で膜ドメインを形成し、そのホスファチジルセリン/ステロール膜ドメイン上で PI(4)P-5-キナーゼが活性化することで PI(4,5)P₂ を産生していることを見出した (Nishimura et al., *Mol Cell* 2019)。

以上のように、本研究の平成 29 年度から令和元年度の成果として、細胞内オルガネラの中でも特にリサイクリングエンドソーム、小胞体、ゴルジ体、細胞膜に関して、オルガネラ膜特異的脂質環境が細胞内情報発信プラットフォームとして機能していることを新たに示すことができた。

5. 今後の計画

これまでの本研究の成果として得られたリサイクリングエンドソーム、ゴルジ体、初期エンドソーム膜、マクロピノサイトーシス時ラッフル膜などの脂質近傍タンパク質のリストをもとに、「オルガネラ膜特異的脂質環境の細胞内情報発信プラットフォームとしての新機能」を解明し、細胞内オルガネラ膜の新たな機能を確立する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Nishimura, T., Gecht, M., Covino, R., Hummer, G., Surma, M. A., Klose, C., Arai, H., Kono, N., and Stefan, C. J. (2019). Osh Proteins Control Nanoscale Lipid Organization Necessary for PI(4,5)P₂ Synthesis. *Mol Cell* 75, 1043-1057.e8.
- Ogawa, E., Mukai, K., Saito, K., Arai, H.*, and Taguchi, T.* (2018). The binding of TBK1 to STING requires exocytic membrane traffic from the ER. *Biochem Biophys Res Commun* 503, 138-145. (*co-corresponding author)
- Hansen, A. L., Buchan, G. J., Rühl, M., Mukai, K., Salvatore, S. R., Ogawa, E., Andersen, S. D., Iversen, M. B., Thielke, A. L., Gunderstofte, C., Motwani, M., Møller, C. T., Jakobsen, A. S., Fitzgerald, K. A., Roos, J., Lin, R., Maier, T. J., Goldbach-Mansky, R., Miner, C. A., Qian, W., Miner, J. J., Rigby, R. E., Rehwinkel, J., Jakobsen, M. R., Arai, H., Taguchi, T., Schopfer, F. J., Olagnier, D., and Holm, C. K. (2018). Nitro-fatty acids are formed in response to virus infection and are potent inhibitors of STING palmitoylation and signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, E7768-E7775.
- Shimanaka, Y.¹, Kono, N.¹, Taketomi, Y., Arita, M., Okayama, Y., Tanaka, Y., Nishito, Y., Mochizuki, T., Kusuhara, H., Adibekian, A., Cravatt, B. F., Murakami, M., and Arai, H.* (2017). Omega-3 fatty acid epoxides are autocrine mediators that control the magnitude of IgE-mediated mast cell activation. *Nat Med* 23, 1287-1297. (¹co-first author)
- Matsudaira, T., Mukai, K., Noguchi, T., Hasegawa, J., Hatta, T., Iemura, S., Natsume, T., Miyamura, N., Nishina, H., Nakayama, J., Semba, K., Tomita, T., Murata, S., Arai, H.*, and Taguchi, T.* (2017). Endosomal phosphatidylserine is critical for the YAP signalling pathway in proliferating cells. *Nat Commun* 8, 651. (*co-corresponding author)

他 1 4 報

7. ホームページ等

<https://sites.google.com/site/eiseikagaku/>