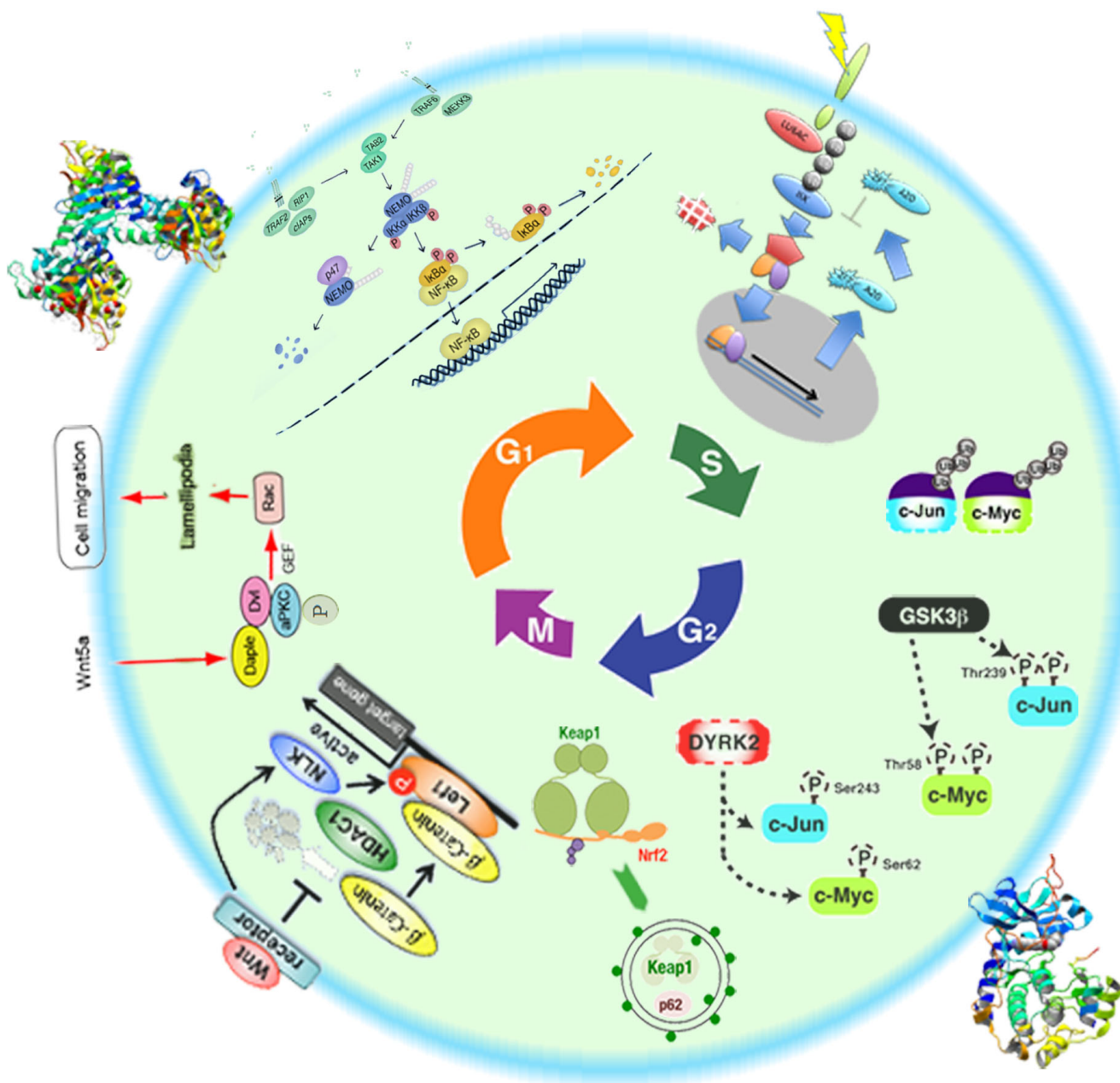


翻訳後修飾によるシグナル伝達制御の 分子基盤と疾患発症におけるその破綻

井上純一郎



翻訳後修飾によるシグナル伝達制御の 分子基盤と疾患発症におけるその破綻

(略称：修飾シグナル病)

「修飾シグナル病」からの Newsletter 第3弾です！

文科省科研費・新学術領域研究「翻訳後修飾によるシグナル伝達制御の分子基盤と疾患発症におけるその破綻」(略称：修飾シグナル病)は、2010年度からスタートし既に3年目を終えようとしています。昨年9月には中間評価のヒアリングがありましたが、班員の皆様がこれまでに多くの研究成果を上げられ、しかもその成果の社会還元についても努力していただいたことから、「期待通りの進展が認められる(A評価)」旨の評価をいただきました。領域代表として深く感謝いたします。また、今後も引き続きご協力をお願いいたします。

さて、前号のNewsletterでは、約半数の公募班員の先生方に研究室のトピックス、自慢話、人物紹介、ユニークな話題等を自由な形式でご紹介して頂きました。今回は、紙面の都合上前回お願いできなかった先生方にご執筆をお願いしました。また、領域の活動も中間点にさしかかり、異分野連携も含めた多くの研究成果が出始めておりますので、本領域から最近発表されました主要な成果の中から6課題について紹介していただきました。今回も編集担当の尾山大明先生に企画を工夫していただいたお陰で、読んで楽しいものにまとまったと自負しております。どうかお楽しみください。

修飾シグナル病 領域代表 井上純一郎

2013年1月19日



昨年11月、Inder Verma博士(私の留学中のボス)の65歳の記念シンポジウムがSan DiegoのSalk研究所で開催されました。その時に撮った私と同じ時期にボスだった友人との記念写真です。(左から Paul Chiao, 私, Rivka Ofir, James Chen)

研究紹介

研究室のトピックス、自慢話、人物紹介、ユニークな話題などをご紹介します。



DJ-1 の酸化修飾によるシグナル変動とパーキンソン病・細胞癌化

有賀 早苗 p3

北海道大学大学院農学研究院環境分子生物科学研究室



COP9 シグナロソームを介した脱 Nedd8 化によるシグナル伝達と発がんの理解

加藤 順也 p6

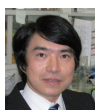
奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科



三つ子の魂百まで

遠藤 剛 p3

千葉大学大学院理学研究科



広島平和大通りのイルミネーションをみて

浅野 知一郎 p6

広島大学大学院医歯薬保健学研究院医化学教室



留学のすすめ

越川 直彦 p4

東京大学医科学研究所腫瘍細胞社会学分野



翻訳後修飾を基盤とした新たな抗 HIV 宿主因子の同定

梁 明秀 p7

横浜市立大学医学部微生物学



ミトコンドリアの機能とタンパク質切断

武田 弘資 p4

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科



ポリ(ADP-リボシル)化によるタンパク質のユビキチン分解と細胞分裂の制御

清宮 啓之 p8

公益財団法人がん研究会がん化学療法センター



アダプター分子の翻訳後修飾とその異常による疾患の解明

山梨 裕司 p5

東京大学医科学研究所腫瘍抑制分野



新たなパラダイムへ向かって

石戸 聡 p8

昭和薬科大学薬学部統合感染免疫学研究室



ゆっくりした時計タンパク質の蓄積と分解のウラがわ～Fボックス蛋白質による時計蛋白質クリプトクロムの分解と安定化の綱引き～

深田 吉孝 p5

東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻



ユビキチンの不思議

木村 洋子 p9

東京都医学総合研究所蛋白質代謝研究室



α クロトーが認識する糖鎖の構造決定とシグナル様式の解明

伊村 明浩 p9

先端医療センター医薬品開発研究グループ

最新研究成果紹介

領域としての活動も中間点にさしかかり、異分野連携も含めた多くの研究成果が出始めております。そこで、本領域の先生方が中心となって進めてこられた研究成果の中から、最近発表された代表的な論文をご紹介します。



NF- κ B 活性化経路の新たな制御機構の解明

柴田 佑里 p10

東京大学医科学研究所分子発癌分野



オートファジーによる Keap1 タンパク質分解とレドックス恒常性の維持

田口 恵子 p13

東北大学大学院医学系研究科医化学分野



Akt キナーゼによるアクチン結合蛋白 Girdin のリン酸化修飾と疾患

高橋 雅英 p11

名古屋大学大学院医学系研究科分子病理



DYRK2 priming phosphorylation of c-Jun and c-Myc modulates cell cycle progression in human cancer cells

吉田 清嗣 p14

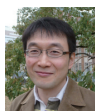
東京慈恵会医科大学大学生化学講座



A20-直鎖状ユビキチン-B 細胞リンパ腫、そしてその先へ

徳永 文稔 p12

群馬大学生体調節研究所分子細胞制御分野



NLK は神経前駆細胞において Lef 1 のリン酸化を介して Wnt/ β カテニンシグナルを正に制御する

石谷 太 p15

九州大学生体防御医学研究所細胞統御システム分野

研究紹介



DJ-1 の酸化修飾によるシグナル変動とパーキンソン病・細胞癌化 有賀 早苗

北海道大学大学院農学研究院環境分子生物科学研究室

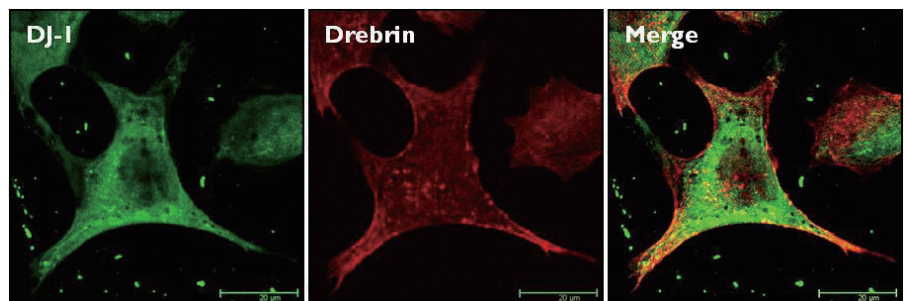
私たちがクローニングした癌遺伝子 DJ-1 産物の機能を酸化ストレス応答の視点から解析しています。Drebrin との相互作用による神経突起形成促進が酸化ストレスにより阻害されることがパーキンソン病等の神経変性疾患発症に関わる可能性などを検討しています。

私の研究室は教員一人と学部生、大学院生、合わせて二桁になるかどうかの小さな研究室で、狭い主実験室に隣接する教授室も実験室としても使っています。その他に、窓が無いなど少々難ありで空いていた4階、2階、地下のちょこっとスペースを借り受けて、研究を展開しています。周辺はフィールド科学系のアウトドア志向研究室が多い中、私のところは完全インドアの研究室ですが、地下から4階まで階段を上がったたり下りたりは実験の合間の体力作りにも役立っています。

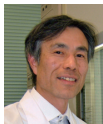
す(…と、不便さもポジティブに捉えるようにしています)。医・薬・理など学内他部局にも色々な機器使用や実験について協力を得ていますが、本領域班でもさらに多くの方たちのご教示で協力を得て研究を進められたら嬉しいです。

「農学部なのに癌だとか神経変性疾患だとか、どういうこと??」という疑問には、総合大学の基盤として始まった札

幌農学校は、クラーク博士以来、ヒトおよびヒトを取り巻く生物の生存・共生・環境に係る様々な基礎科学・実学を包括的に追究するという基本姿勢を持っているのだと回答しています。農学部仲間には、非主流ではあっても反主流ではないよと伝えて、仲良くしてもらっています。



神経様突起形成における DJ-1 と Drebrin の共局在

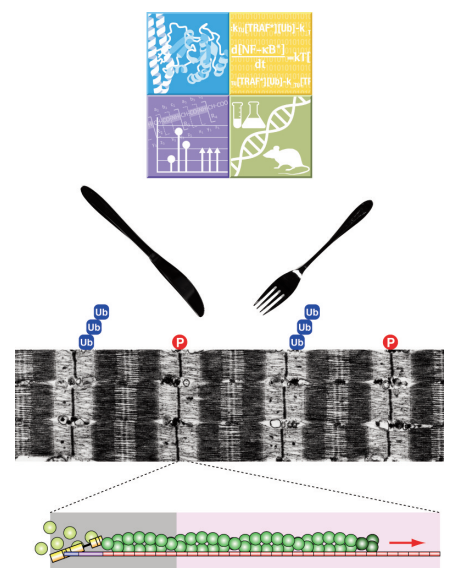


三つ子の魂百まで 遠藤 剛

千葉大学大学院理学研究科

『修飾シグナル病』での私の研究課題は、筋原線維形成をシグナル伝達の見地から解明するという、筋研究の分野ではユニークなものです。実は、卒業研究、大学院、米国でのポストドク時代を通じて、筋肉の生化学、細胞生物学、分子生物学と、筋研究にどっぷりつかってきました。しかし1987年に帰国して、何か新しいことをしなければと悶々とした日々を送っていて、そこで出会ったのが低分子量G蛋白質やシグナル伝達でした。筋細胞分化を制御している低分子量G蛋白質を見つけようとして発見したのがM-Rasです(Mはmuscleにちなんで命名)。しかしM-Rasは筋細胞分化ではなく、

神経細胞分化や骨芽細胞分化に働いていました。またM-Rasの標的蛋白質として発見したDA-Raf1は、がん抑制や肺胞形成に働いていました。若気の至りで、もう筋肉の時代は峠を越したと勝手に思い込み、しばらく筋研究から離れていました。しかし三つ子の魂百まで。N-WASPが筋原線維のZ帯に局在しているのを見つけて、これが筋原線維形成に働いていると直感し、また筋研究にどっぷりつかることになりました。しかし今度はシグナル伝達やら疾患やらと、以前よりずっと楽しい内容になっています。この筋研究を翻訳後修飾でさらにおいしく味付けしていこうと思います。



筋原線維形成を翻訳後修飾で味付けしておいしくいただく

研究紹介



留学のすすめ

越川 直彦

東京大学医科学研究所腫瘍細胞社会学分野

私は米国カリフォルニア州ラホイヤでスクリプス研究所のポストドクとして4年間を過ごしました。この4年間は研究に没頭でき、また、多くの仲間を作ることができました。あれから十数年、多くの仲間もPIとして独立した研究を開始しており、あるときはライバル、また、あるときは共同研究者として、私の現在の研究を支えてくれています。

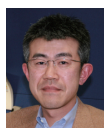
最近、日本のラボの研究環境が充実し、わざわざ苦労して留学する意味が見出されないため、留学する若い研究者数が減っています。しかし、今振り返ってみると、留学は単なる海外での武者修行だけ

でなく、将来の自分の研究について熟思黙想するよい機会となりました。

そのため、若い人には留学のチャンスを積極的に生かし、そして、多くの仲間を作り、是非、その仲間と研究のネットワークを作って欲しいと思います。このような仲間は将来の研究への財産となります（実際、私も10年ぶりに留学先のボスと共同研究を開始しました）。また、海外では研究以外にも様々な経験が可能です。私ごとであるが、毎年メキシコで開催されるファンライドで自転車に乗る楽しみを初めて知り、今でも海外のファンライドに出場しています。



写真はメキシコでの50マイルファンライド激走後の筆者



ミトコンドリアの機能とタンパク質切断

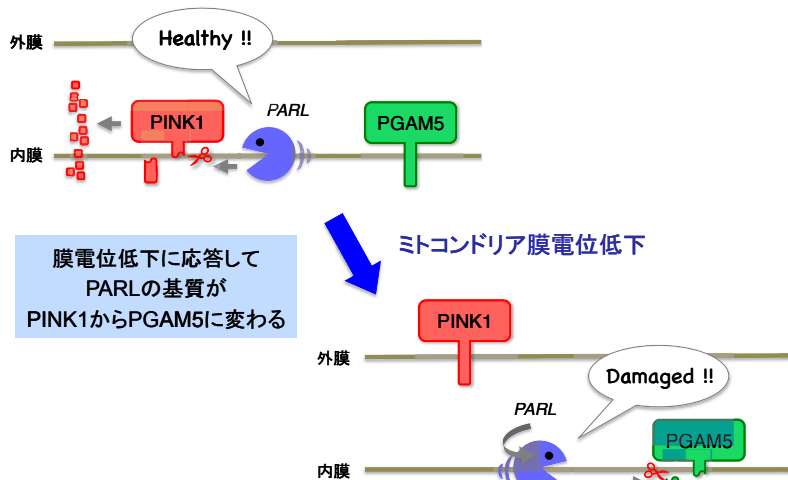
武田 弘資

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

私たちは、新しいタイプのセリン・スレオニン特異的プロテインホスファターゼであるPGAM5という分子に注目して研究を進めています。この分子はN末端側に存在する膜貫通ドメインを介しておもにミトコンドリアの内膜に局在し、ミトコンドリアの膜電位低下にともなって膜貫通ドメイン内で切断されます。最近、PARLという膜型プロテアーゼがその切断に働くことが分かりました。PARLはPGAM5と同じくミトコンドリアの内膜に存在し、若年性パーキンソン病の原因遺伝子の一つであるPINK1というプロテインキナーゼを分解することが知られています。興味深いことに、膜電位を保ったミトコンドリアではPARLはPINK1を切断して分解へと導いていますが、膜電位の低下により機能不全に陥ったミトコンドリアではPARLによるPINK1の切断が抑制され、PINK1は外膜上で安定化します。PINK1とは逆に、PGAM5が膜電位低下にともなって

PARLによって切断されるという今回の発見は、ミトコンドリアの状態に応じてキナーゼとホスファターゼを一つの膜内切断酵素が切り分けることを意味してお

り、タンパク質の切断調節機構がミトコンドリアの機能に深く関わっていることを示す事象として注目されます。



Sekine et al. J. Biol. Chem. 287, 34635-34645 (2012)



アダプター分子の翻訳後修飾とその異常による疾患の解明

山梨 裕司

東京大学医科学研究所腫瘍抑制分野

我々の研究室では多様な疾患に関わるシグナル伝達機構の研究を進めており、本領域では修飾シグナルの異常と各疾患との関わりを追求しています。今回は「研究課題とは異なる内容」とのことですので、神経筋シナプス (NMJ) に関して不思議に思っていることにひとつだけ触れます。その名の通り、NMJ は運動神経と筋管細胞 (筋繊維) を結ぶシナプスであり、その喪失は運動・呼吸機能の喪失を意味します。興味深いことに、哺乳動物の殆どの NMJ は筋管の中央部分にひとつだけ形成されるのですが、例えば、魚類では筋管の色々な部分に形成されます。さらに、我々が樹立した筋管の中央部分に2個程度ずつの NMJ を形成するマウスには異常が見られないのに対して、NMJ の数は1個程度ずつで、それが筋管の色々な部分に離散するマウスは致死性の筋力低下を呈します。これは、哺乳動物の NMJ が中央部分に形成される

ことの重要性を示唆しています。我々はこの知見をもとに神経筋疾患の治療技術の開発を進めていますが、個人的には、「哺乳動物の NMJ は本当に中央になけれ

ばならないのか？」という問いに惹きつけられています。今は難しいですが、この興味に迫る為にも、NMJ に関する研究に拘ってみたいと思っています。



頼もしいラボメンバーです



ゆっくりした時計タンパク質の蓄積と分解のウラがわ

～Fボックス蛋白質による時計蛋白質クリプトクロムの分解と安定化の綱引き～

深田 吉孝

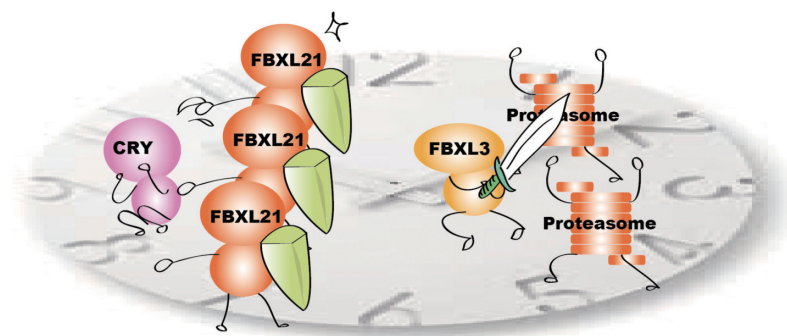
東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻

サーカディアンリズムを司る概日時計機構において、時計遺伝子発現の日周リズムがいかんして安定に維持されているのか、大きな課題として残されている。時計遺伝子の転写の活性化と抑制が、それぞれ12時間ずつかけてゆっくり正確に起こるためには、転写抑制因子CRY1とCRY2が細胞質で昼のうちに蓄積し、夕方に核内移行して転写を抑制したのち、夜になって核内でゆっくり分解されて転写抑制が正確に解除されることが必須である。私たちは最近、複雑なユビキチン修飾によるCRY1/2のユニークな制御機構を発見した。CRY1/2はF-box型ユビキチンE3リガーゼであるFBXL3によってユビキチン化されプロテアソームで分解される。一方、FBXL3と良く似た構造をもつFBXL21はやはりCRYをユビキチン化するが、何とCRY

を安定化することが分かった。*Fbxl3* を機能阻害した時に見られる約28時間の長周期リズムは、さらに*Fbxl21* を阻害すると24時間周期に近づくが、両者の欠失により概日時計の安定性が大きく低下することが分かった。つまり、スピードアップ (CRY 分解促進) とスピードダウン (CRY 安定化) の綱引きによる

絶妙のテンションが、安定な24時間リズムの形成に必要なのだ。

FBXL3とFBXL21は互いに良く似た構造をもつが、FBXL3とプロテアソームはCRYタンパク質を分解し、FBXL21はその分解攻撃からCRYを守る。その結果、CRYタンパク質の細胞内量は大きく日周変動する。



研究紹介



COP9 シグナロソームを介した脱 Nedd8 化によるシグナル伝達と発がんの理解

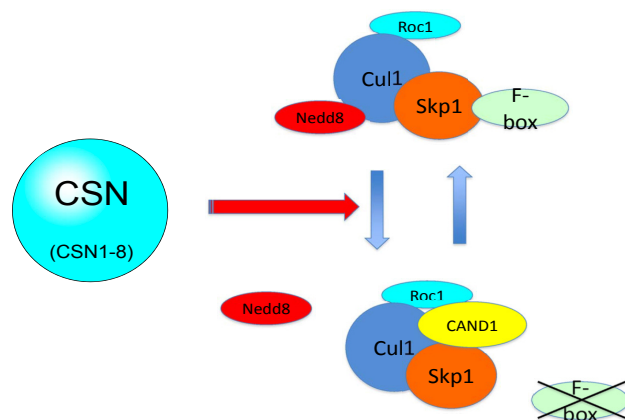
加藤 順也

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科

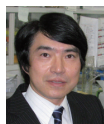
COP9 シグナロソームは、8つのサブユニット（CSN1-8）からなるタンパク質複合体で、高度に保存されています。また、その関与する生命現象は、光応答や初期発生における形態形成、細胞周期とチェックポイント制御、シグナル伝達、T細胞の成熟、細胞癌化、卵成熟など、と大変幅が広いです。COP9 シグナロソームは、タンパク分解を担うプロテアソーム、タンパクの翻訳をつかさどる翻訳開始因子（eIF3）と高い相同性を示し、共通祖先分子の存在を示唆するとともに、機能の共通性を暗示しています。多機能性を示す COP9 シグナロソームの生化学的研究の中で最も進んでいるのは、脱 Nedd8 化反応の触媒で、COP9 シグナロソームはこの酵素活性を介することでユビキチンリガーゼの活性を調節し、標的タンパク質の細胞内発現量（安

定性）を制御しています。私たちの研究室では、COP9 シグナロソームの第5サブユニットが細胞周期制御、細胞癌化と関わることを見いだして以来、脱 Nedd8 化と COP9 シグナロソームがいかに発癌

と関わるかを研究しています。本研究領域では、脱 Nedd8 化と COP9 シグナロソームが Ras を介するシグナル経路でどのような役割を果たし細胞癌化に結びつくかを明らかにするつもりです。



シグナロソームによるCRLユビキチンリガーゼの制御



広島平和大通りのイルミネーションをみて

浅野 知一郎

広島大学大学院医歯薬保健学研究院医化学教室

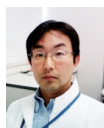
広島では、平和大通りが2キロに渡ってメルヘンチックなイルミネーションで飾られる美しい時期になっています。このイルミネーションを見ると、6年ほど前に広島大学に着任した時のことを時々、思い出します。

着任当初、私の教室は空っぽの状態、実験を開始出来るように最低限の実験器具を揃えるのが、まず大変でした。新品を揃えれば、研究費が無くなるというより、全部使っても足りません。そこで、多くの教室からさまざまな器具、遠心機やクリーンベンチから事務机、椅子に至るまでを分けて頂き、これらをレンタトラック一杯に詰め込んで自分で東京から広島まで運転して運んだことが2回ありました。夜中、トラックを走らせて早朝に大学に着くと、メンバーが全員、研究棟の前で待っていて実験器具を教室に搬入したのですが、今となっては良い思い出です。

そのようにして、みんなで苦労してセットアップした教室なので、とても仲が良いのが自慢できる点です。また、夜型と朝型の人がいるので、朝早くから夜遅くまで電気がついていて、あたかも一日中、実験しているラボのように見えます（←あまり自慢できることではないです

が（笑））。次第にメンバーが増え、今年は Pin1、PAR14、Tfg の conditional KO マウスを作成することもできました。これからは、研究分野も代謝、炎症から癌や神経機能まで広がっていきそうですので、共同研究を円滑に進めて、一層、成果を上げたいと思っています。





翻訳後修飾を基盤とした新たな抗 HIV 宿主因子の同定

梁 明秀

横浜市立大学医学部微生物学

こんにちは。横浜市大の梁です。今日は私の研究室で行っている HIV タンパク質の翻訳後修飾研究について紹介させていただきます。昨今の HIV/エイズ研究領域のトピックの1つは、内因性抗レトロウイルス因子群の同定です。これらは I 型インターフェロンで誘導され、細胞内のウイルス複製サイクルのどこかを強力に抑制する因子群です。その1つである Tetherin は BST2 や CD317 と呼ばれる一回膜貫通タンパク質で、細胞膜上でウイルス粒子を係留して、ウイルスの細胞外への放出を阻害します。おもしろいのは Tetherin の宿主細胞における本来の機能もナチュラルリガンドも一切分かっていないことです。ともかく、Tetherin は HIV 粒子の細胞膜からのリリースをかなり強力に抑制します。これに対して HIV は進化の過程で *vpu* という遺伝子を獲得して、この遺伝子産物 Vpu が Tetherin と結合して、エンドソームに引き込んでライソソーム依存的に分解します。ただし、この Vpu の抗 Tetherin 活性には、Vpu の 52 番目と 56 番目のセリン残基がリン酸化されていることが必要です。私たちはこのリン酸化の制御に関わる宿主因子の探索を試みました。本領域の公募研究員である愛媛大学の澤崎先生と共同で、Vpu と結

合するヒトプロテインキナーゼをコムギ無細胞タンパク質合成系とアルファスクリーンを用いたスクリーニング法により探索しました。その結果、約 10 種類の候補タンパク質が同定され、そのうちの1つである SCYL2 が Vpu 依存的にウイルスの複製を阻害することがわかりました。よく調べてみると SCYL2 はキナーゼドメインを持つにも関わらず、キナーゼ活性はなく、むしろ Vpu の脱リン酸化を促進しました。さらなる解析により、SCYL2 は PP2A フォスファターゼを Vpu にリクルートすることで、Vpu の

脱リン酸化を促進させて、Vpu の抗 Tetherin 活性を失わせていたのです。しかも、SCYL2 は I 型インターフェロンで誘導されることも後から分かりました。そんな幸運も重なって、当初は Vpu に結合するヒトキナーゼを同定するつもりが、I 型インターフェロンで誘導される新規の抗レトロウイルス因子の発見に至ってしまったのです。今後も修飾シグナル病研究の1つの研究テーマとして、ウイルスタンパク質の翻訳後修飾とその役割について研究を続けていきたいと考えています。

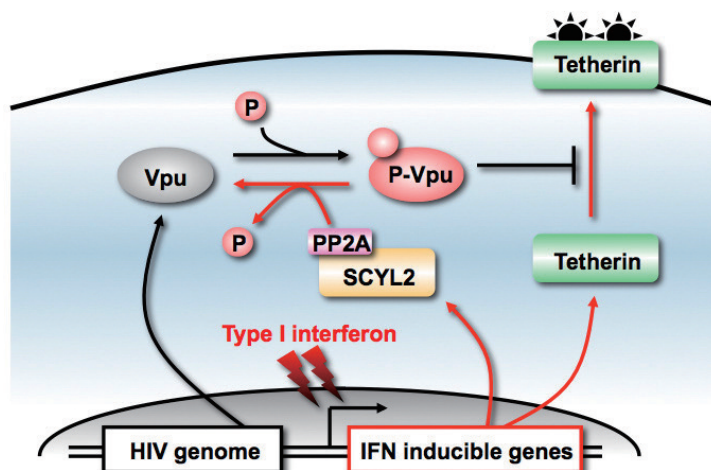


図 われわれが発見した新たな HIV-1 複製阻害機構

参考文献

Miyakawa K et al., Interferon-Induced SCYL2 Limits Release of HIV-1 by Triggering PP2A-Mediated Dephosphorylation of the Viral Protein Vpu. *Sci. Signal.* 5 (245), ra73.

研究紹介



ポリ(ADP-リボシル)化によるタンパク質のユビキチン分解と細胞分裂の制御

清宮 啓之

公益財団法人がん研究がん化学療法センター

近年、翻訳後修飾のひとつであるポリ(ADP-リボシル)化が、タンパク質のユビキチン分解を誘導する初期シグナルとして働くことが明らかになってきた。我々は、タンキラーゼとよばれるポリ(ADP-リボシル)化酵素が有する様々な細胞機能と、その破綻によるがん悪性形質の発現機構を明らかにすべく、研究を進めている。我々はこれまでに、(1) がん遺伝子オーロラ A の異所性過剰発現がテロメアタンパク質 TRF1 のリン酸化を介し、細胞の四倍体化をもたらすこと、(2) タンキラーゼが TRF1 をポリ(ADP-リボシル)化し、これをユビキチン分解に導くことにより、オーロラ A による細胞分裂異常を抑制することを報告してきた。最近の検討により、TRF1 は微小管による動原体の捕捉に関与しており、その上流のタンキラーゼによるポリ(ADP-リボシル)化が微小管—動原体会合を調節していることがわかってきた。すなわち、

タンキラーゼはポリ(ADP-リボシル)化を通じて TRF1 のレベルを制御し、染色体分配の精度を保証しているものと考えら

れる。ある種の発がん初期過程では、この系が破綻することによって染色体不安定性がもたらされると予想される。

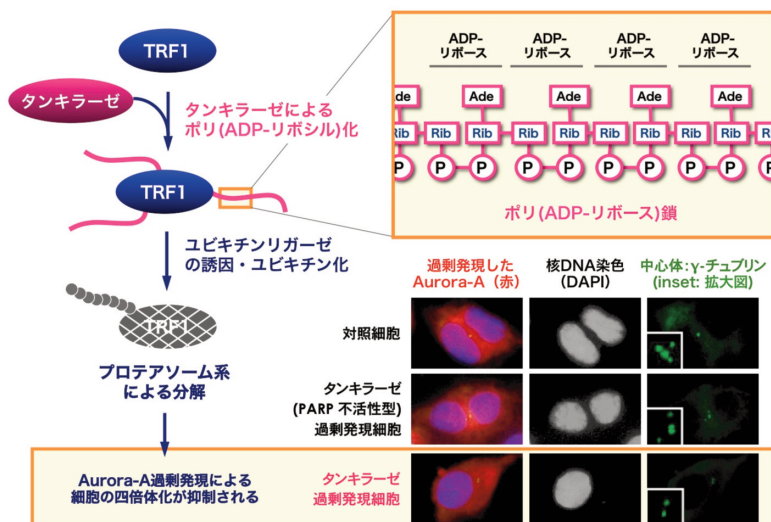


図1：タンキラーゼによるタンパク質分解シグナルは発がん性細胞分裂異常を抑制する



新たなパラダイムへ向かって

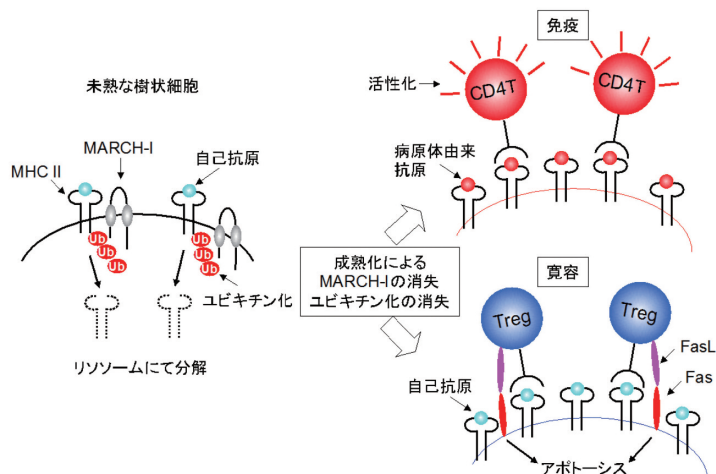
石戸 聡

昭和薬科大学薬学部統合感染免疫学研究室

我々は、免疫応答に重要である主要組織適合抗原 (MHC) の輸送をユビキチン化により制御し、免疫制御を行なう E3 ユビキチンリガーゼファミリー (MIR(modulator of immune recognition)ファミリー) を見出しました。この発見をきっかけとして、「ユビキチン修飾系による膜タンパク質輸送の生理学的意義」の研究を行なっています。その中で CD4 T 細胞の分化に必須である MHC class II の生理学的 E3 ユビキチンリガーゼ、MARCH-I の発見は免疫学において注目されつつあります。MARCH-I は、MHC II のベーター鎖をユビキチン化し、MHC II をエンドサイトーシスによってリソソームへ輸送する酵素でありました。MARCH-I は免疫を起動する細胞である樹状細胞に強く発現しており、定常状態において MHC class II をユビキチン化し、その turnover を促しています。しかしながら、樹状細胞の活性化/成熟

に伴い MARCH-I の発現が低下し、ペプチドを提示する MHC class II が安定的に発現される事がわかりました。このように、少なくとも MARCH-I の制御機構

に関する我々の仕事は、免疫制御における新たなパラダイムを導くものと信じております。今後とも是非宜しくお願い致します。



「MHC II ユビキチン化による免疫制御の仮説」

樹状細胞が成熟化する事により MARCH-I が抑制され MHC II のユビキチン化が抑制される。これによって、免疫と寛容が誘導される。



ユビキチンの不思議 木村 洋子

東京都医学総合研究所蛋白質代謝研究室

ユビキチンはなぜこんなに変な遺伝子、蛋白質なのかと、ときどき思う。

まず遺伝子構造。たいていの生物でユビキチンは、なんらかの蛋白質との融合蛋白質をコードする遺伝子構造を持つ。リボソームのサブユニットとの融合蛋白質か、もしくはユビキチンがタンデムに結合したポリユビキチンである。融合蛋白質のプレカーサーとして翻訳されたあと、何らかの脱ユビキチン化酵素によって切られて、1個のユビキチンになるようである。1個のユビキチンのみをコードする遺伝子を持つ生物は、ランブル鞭毛虫と赤痢アメーバ位しか見つかっていないそうだ。そもそも何で翻訳装置であるリボソーム蛋白質との融合蛋白質なのか不思議だ。Finleyは、ユビキチンはリボソーム複合体にアセンブルする際の分子内シャペロンであると提唱しているが、それだけの理由なのだろうか。興味深いことに、単細胞藻類の一種ではユビ

キチンはアクチンとの融合蛋白質にもなっているそうだ。

ポリユビキチン遺伝子はストレス誘導性の転写制御を受ける。ポリユビキチンになっていると、ユビキチンが多く必要とされるストレス時には、一回の翻訳で何個ものユビキチンがまとめてできるか

ら効率がよいと言われているが、これも不思議な制御である。

これだけでも不思議なユビキチンであるが、変性処理しても簡単にリフォールディングしてしまう構造や、ユビキチン鎖のリンケージ特異性とか、ユニークすぎるくらいの蛋白質だと思ってしまう。

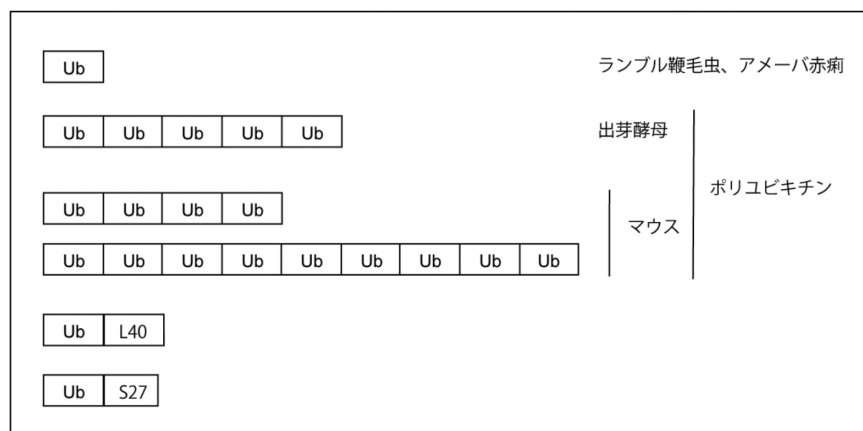


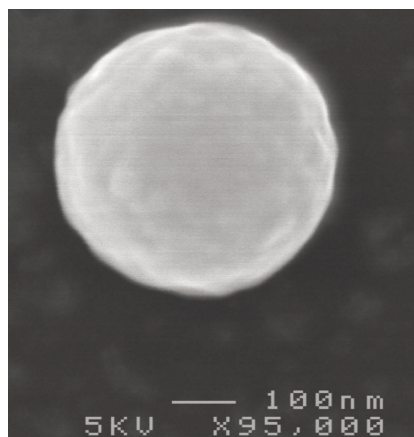
図 ユビキチンプレカーサーとユビキチン



α クロトーが認識する糖鎖の構造決定とシグナル様式の解明 伊村 明浩

先端医療センター医薬品開発研究グループ

少々脱線することをお許し下さい。この写真、いったい何でしょう？



全ての細胞は細胞外液の状況を感じてきますが、とりわけCa濃度には鋭敏な細胞があります。副甲状腺細胞はその一例で、低Caに鋭敏に応答して副甲状腺ホルモンを分泌します。センサー分子としてカルシウム受容体(CaR)が有名ですが、CaRの細胞内分布を調べているうちに、興味深い細胞内構造物を見つけました。

この球状構造は正確に360nmの直径を持ち、界面活性剤に難溶性です。CaR以外にv-ATPaseやオーファンGPCRなど十数種類の膜分子で構成されています。また、エンドサイトーシスマーカーが豊富に検出されることから、形質膜

(ラフト?)の陥入によって形成される可能性があります。この膜構造が副甲状腺に特有であることから、cAMPの発生源になっているのではないか?という仮説で検証を進めています。

現代は「分子クローニング」に強く影響を受けており、還元論的理解を基盤にする傾向があるように思います。しかし場合によっては、「構造」や「成り立ち」が機能の本質であると考えてもよいのでは?分子のリン酸化やユビキチン化だけではなく、「構造に依存するシグナルの修飾」という考えが成り立つ可能性を紹介させて頂きました。

最新研究成果紹介



NF- κ B 活性化経路の新たな制御機構の解明

柴田 佑里

東京大学医科学研究所分子発癌分野



Shibata Y, Oyama M, Kozuka-Hata H, Han X, Tanaka Y, Gohda J, Inoue J.

p47 negatively regulates IKK activation by inducing the lysosomal degradation of polyubiquitinated NEMO.
Nat Commun. 2012;3:1061. doi: 10.1038/ncomms2068.

転写因子 NF- κ B の制御不全は炎症性疾患や癌の原因となるため、NF- κ B の活性化は厳密に制御される必要がある。TNF 受容体、IL-1 受容体下流では、IKK 複合体による I κ B α のリン酸化、分解が引き金となって NF- κ B が活性化する。IKK 活性化には IKK 調節サブユニット NEMO の 63 型または直鎖状のポリユビキチン化が重要であり、脱ユビキチン化酵素の CYLD や A20 はこれらポリユビキチン鎖を切断することで IKK 活性化を負に制御すると考えられてきた。だが、近年 A20 の脱ユビキチン活性は IKK 活性化制御に不必要であることが報告されるなど、ポリユビキチン鎖を標的とした IKK 抑制機構の全容は明らかとなっていないかった。

そこで、私たちは領域内でプロテオミクス解析を担当する尾山先生との共同研究において、新規 IKK 結合タンパク質として p47 (NSFL1C) を同定し、さらに p47 がポリユビキチン化 NEMO のリソソームでの分解を誘導して IKK 活性化を負に制御することを明らかにした。これまで 63 型ポリユビキチン化タンパク質の制御は脱ユビキチン化酵素が担っていると考えられてきたが、分解を介した制御機構の存在が示唆された。また、NF- κ B が恒常的に活性化している成人 T 細胞白血病細胞において p47 の発現が低下していることも見出し、p47 の発現低下が恒常的な NF- κ B 活性化、細胞悪性化につながる可能性が示唆された。

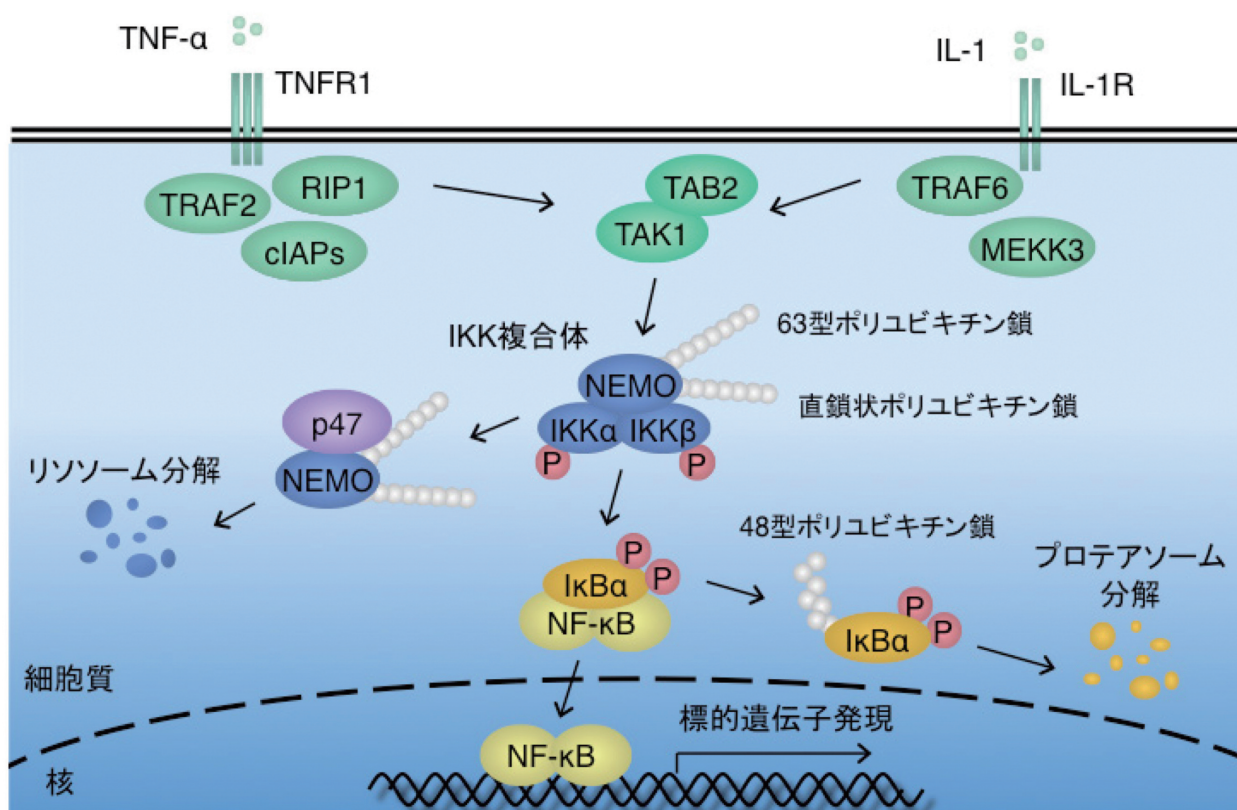


図 p47によるIKK複合体抑制機構の模式図



Akt キナーゼによるアクチン結合蛋白 Girdin のリン酸化修飾と疾患

高橋 雅英

名古屋大学大学院医学系研究科分子病理

Ishida-Takagishi M, Enomoto A, Asai N, Ushida K, Watanabe T, Hashimoto T, Kato T, Weng L, Matsumoto S, Asai M, Murakumo Y, Kaibuchi K, Kikuchi A, Takahashi M.
The Dishevelled-associating protein Daple controls the non-canonical Wnt/Rac pathway and cell motility.
Nat Commun. 2012 May 29;3:859. doi: 10.1038/ncomms1861.

Rho ファミリー分子の一つ Rac はアクチン細胞骨格の再構成や細胞運動に必須の分子であるが、現在までに非古典的 Wnt シグナル伝達経路の下流で Rac が活性化される分子機構は解明されていない。本論文では Girdin ファミリー蛋白である Daple (Dishevelled-associating protein with a high frequency of leucine residues) が Dishevelled (Dvl) との相互作用を介して、Wnt5a 刺激依存的な Rac の活性化を制御することを示した。

Daple あるいはその C 末端ドメインの強制発現によって Rac が特異的に活性化することを見出した。RNA 干渉法によって内因性に発現する Daple をノックダウンすると血清刺激あるいは Wnt5a 刺激に依存した Rac の活性化と細胞運動能が抑制された。次にその分子メカニズムとして、以前 Dvl の結合分子として同定され、かつ神経細胞の突起伸長に重要と報告された非定型プロテインキナーゼ C (atypical pro-

tein kinase C、以下 aPKC) に着目した。Daple の発現によって、Dvl と aPKC の結合が増強され、aPKC のリン酸化が誘導された (図)。Daple 依存的な Rac の活性化は aPKC の阻害剤 (pseudosubstrate) の投与によって抑制されることから、Daple による Dvl/aPKC の複合体の安定化が Rac の活性に重要と結論された。今回の検討では Dvl/aPKC 複合体の下流で Rac を活性化するメカニズムは明らかにできなかったが、Tiam-1 等の GEF 活性を有する分子がその役割を担うものと推定される。また作製した Daple ノックアウトマウスの解析により、本分子機構が皮膚の創傷治癒に重要な役割を果たすことも明らかとなった。

本研究は、非古典的 Wnt シグナル伝達経路の新たな分子機構を解明するとともに、創傷治癒の他、癌の進展等における細胞運動を制御する機序の解明につながる可能性がある。

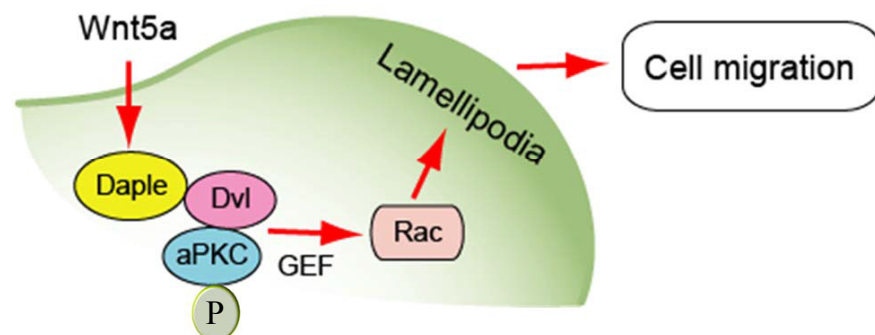


図: Wnt シグナルによる Daple を介した Rac の活性化とラメリポディア形成機構

最新研究成果紹介



A20-直鎖状ユビキチン-B細胞リンパ腫、そしてその先へ

徳永 文雄

群馬大学生体調節研究所分子細胞制御分野

Tokunaga F*, Nishimasu H*, Ishitani R, Goto E, Noguchi T, Mio K, Kamei K, Ma A, Iwai K, Nureki O. (*; equal contribution)

Specific recognition of linear polyubiquitin by A20 zinc finger 7 is involved in NF- κ B regulation
EMBO J. 2012 Oct 3;31(19):3856-70. doi: 10.1038/emboj.2012.241. Epub 2012 Aug 28.

LUBAC は、直鎖状ユビキチン鎖生成という新しい翻訳後修飾を介して古典的 NF- κ B 経路を制御するユビキチンリガーゼ(E3)複合体である。私たちは LUBAC による NEMO の直鎖状ユビキチン化を介した NF- κ B 活性化メカニズムについて解明したのだが、LUBAC を負に制御する脱ユビキチン化酵素(DUB)については全く不明であった。

今回、石谷班(濡木理教授、西増弘志助教のご参画)とともに、A20 の zinc finger(ZF)7 が直鎖状ユビキチンに特異的に結合することを構造生物学的に示すとともに、この領域を介して TNF 受容体に集積することが NF- κ B 制御に重要であること、直鎖状ユビキチン結合能が喪失する A20 ZF7 の変異は B 細胞リンパ腫発症に深く関連することを見いだした(図 1)。従来、A20 の作用機作としては DUB 活性によって Lys63 ユビキチン鎖を RIP1 から除去し、ZF4 が E3 活性中心

として Lys48 ユビキチン鎖を付加し、RIP1 を分解に導くという有名な Nature 論文¹があり、その後 ZF4 がユビキチンに結合することが報告され²、私たちの論文作成時に ZF7 が Lys63 ポリユビキチンに結合するとの報告も出たのだが³、ZF7 の直鎖状ユビキチン結合が本質的に重要で、この機能不全ががん発症に連関することが明確になった。ユビキチンや NF- κ B 研究は競合が激しく、本論文もベルギーの Beyaert グループ⁴との back-to-back である。良ければ両方に目を通して頂き、その目指す先へ興味を持って頂ければ幸いである。

- 1 Wertz, I. E. et al. *Nature* **430**, 694-699 (2004).
- 2 Bosanac, I. et al. *Mol Cell* **40**, 548-557 (2010).
- 3 Skaug, B. et al. *Mol Cell* **44**, 559-571, (2011).
- 4 Verhelst, K. et al. *EMBO J* **31**, 3845-3855, (2012).

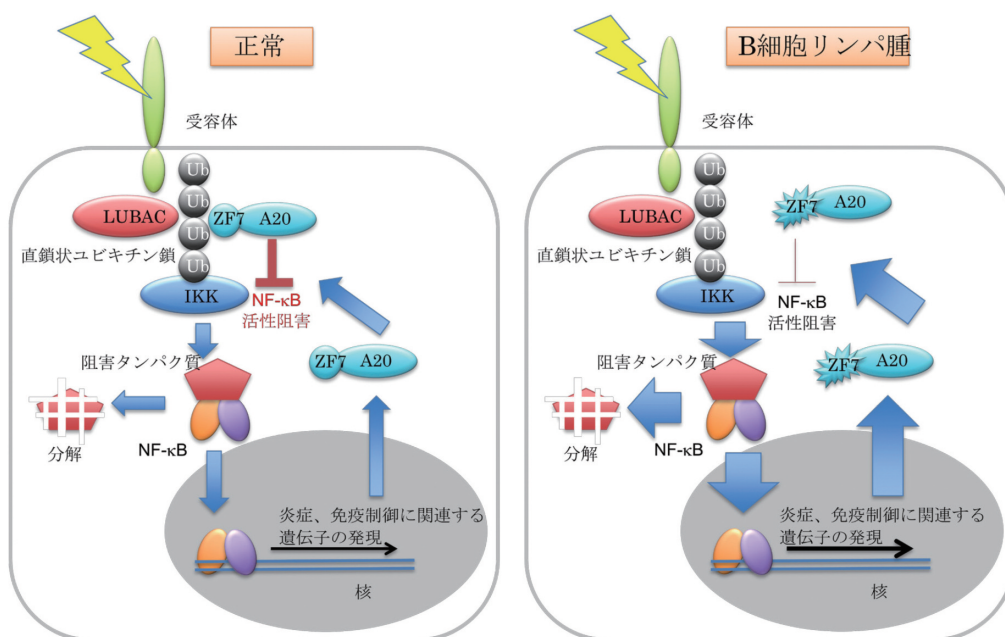


図1 A20 ZF7による直鎖状ユビキチン鎖結合を介したNF- κ B抑制機構とB細胞リンパ腫との関連

正常時はNF- κ Bが活性化するとA20が発現され、ZF7を介して直鎖状ユビキチン鎖に結合することで、適切なタイミングでNF- κ B経路を抑制する。一方、ZF7に異常があると直鎖状ユビキチン鎖に結合できず、NF- κ B活性が抑制されない。このため、持続的なNF- κ B活性亢進となり、発がんに至ると示唆される。



オートファジーによる Keap1 タンパク質分解と レドックス恒常性の維持

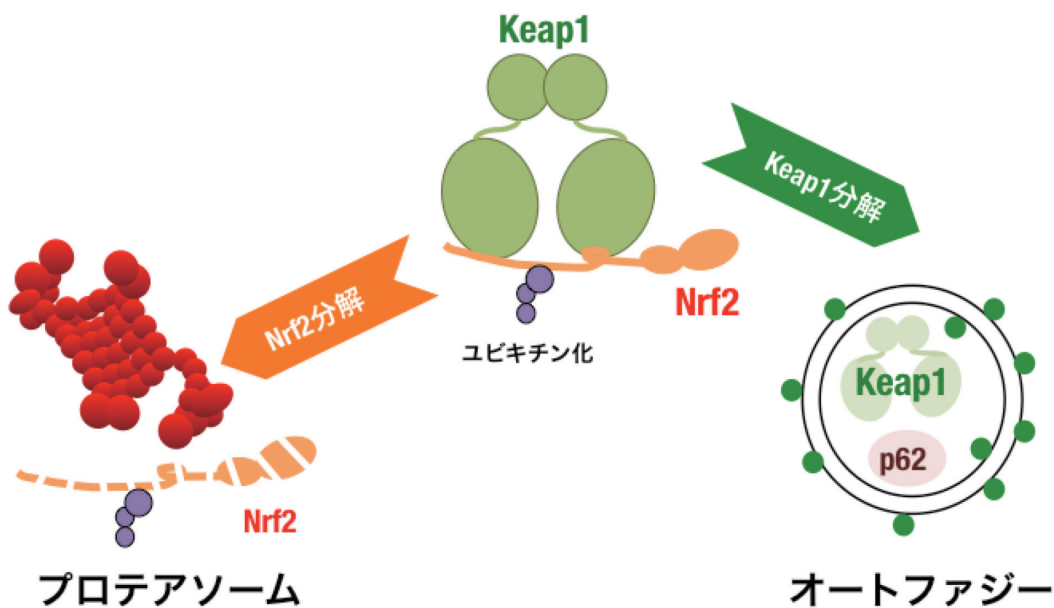
田口 恵子

東北大学大学院医学系研究科医化学分野

 Taguchi K, Fujikawa N, Komatsu M, Ishii T, Unno M, Akaike T, Motohashi H, Yamamoto M.
Keap1 Degradation by Autophagy for the Maintenance of Redox Homeostasis
Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Aug 21;109(34):13561-6. doi: 10.1073/pnas.1121572109. Epub 2012 Aug 7.

転写因子 Nrf2 は、ユビキチンリガーゼアダプターである Keap1 と結合してユビキチン-プロテアソームで分解される。もうひとつのタンパク質分解系“オートファジー”の破綻により蓄積する p62 は、この Nrf2 と Keap1 の結合を阻害する。その結果、分解を免れて安定化した Nrf2 は、転写因子としての機能を発揮して、標的遺伝子群の発現が上昇する。オートファジーが破綻したマウスでは、p62 以外にも多くのタンパク質を蓄積して肝傷害を引き起こす。蓄積タンパク質の中には Nrf2 の標的因子が含まれるが、

本論文において、肝傷害の原因は p62 の蓄積ではなく、Nrf2 の恒常的な活性化であることを明らかとした。さらに我々は、オートファジーが破綻すると、p62 と同様に Keap1 タンパク質が蓄積することを見出した。調べてみると、Keap1 はオートファジーにより分解されるタンパク質であった。生体防御遺伝子群の発現調節に働く Keap1-Nrf2 システムは、Keap1 はオートファジー、一方、Nrf2 はユビキチン-プロテアソームと2つの異なるタンパク質分解系によって制御されるという興味深い知見を示した。



最新研究成果紹介



DYRK2 priming phosphorylation of c-Jun and c-Myc modulates cell cycle progression in human cancer cells

吉田 清嗣

東京慈恵会医科大学大学生化学講座



Taira N, Mimoto R, Kurata M, Yamaguchi T, Kitagawa M, Miki Y, Yoshida K.

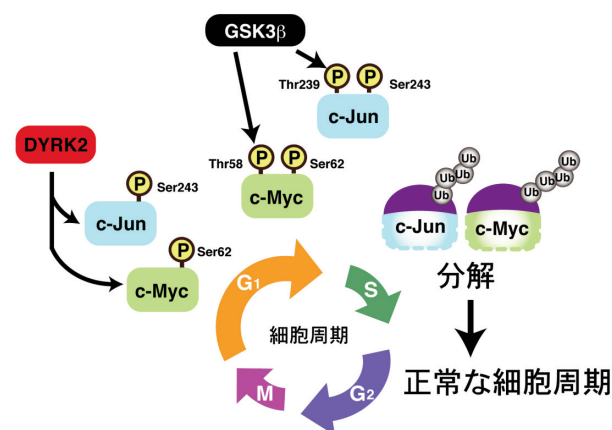
DYRK2 priming phosphorylation of c-Jun and c-Myc modulates cell cycle progression in human cancer cells. *J Clin Invest.* 2012 Mar 1;122(3):859-72. doi: 10.1172/JCI60818. Epub 2012 Feb 6.

癌による死亡原因の九割は癌の転移であり、転移を抑えることができれば、癌の根治が望める可能性が高くなります。転移は癌が増殖・進展・浸潤することで起こりやすくなり、その一因として細胞周期制御の異常が知られていますが、その詳細なメカニズムはわかっていません。その仕組みを明らかにすることを目的として研究を進めた結果、この細胞周期を制御している酵素として新たに DYRK2 を見出しました。DYRK2 は転写因子 c-Jun や c-Myc の分解を促すことで、G1 期から S 期への移行を制御していました。進行した癌では DYRK2 の発現が低下する一方、c-Jun や c-Myc が蓄積することで、癌細胞の増殖が活発となり、進展・浸潤すると考えられます。DYRK2 はユビキチン-プロテアソーム系を介した分解を受けており、癌の進行に伴いこの分解系が何ら

かの機構で亢進している可能性を考え、検証を進めています。本研究による発見により、DYRK2 の発現を元に戻すことで癌の進行を食い止めることができれば、原発巣を適切に治療し除去することで癌の転移を抑えられる可能性が高まります。またこの研究をさらに発展させることにより、癌が進展・浸潤する詳細な分子機構解明と、癌の転移を抑える新規治療法開発への応用が期待されます。

DYRK2 が正しく働いている時には、転写因子 c-Jun や c-Myc をリン酸化し分解を促すことで、適切なタイミングで G1 期から S 期に移行することで細胞周期が正しく制御されている。一方、DYRK2 の発現が低下すると、c-Jun や c-Myc のリン酸化が顕著に減弱し分解異常による蓄積が起こり、G1 期の顕著な短縮に伴う細胞増殖の亢進や腫瘍の進展が生じる。

DYRK2が適正に発現していると...



DYRK2の発現が低下してくると...

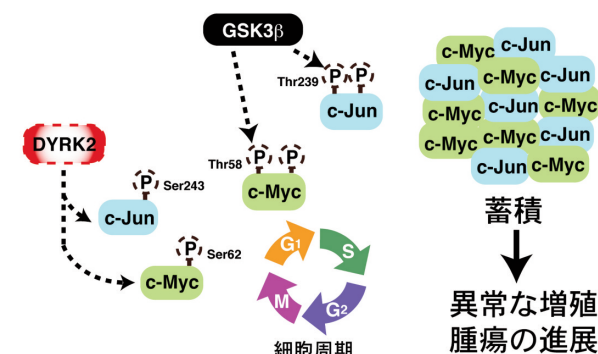
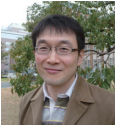


図1 細胞周期進行における DYRK2 を介した c-Jun や c-Myc の発現制御機構



NLK は神経前駆細胞において Lef1 のリン酸化を介して Wnt/ β カテニンシグナルを正に制御する

石谷 太

九州大学生体防御医学研究所細胞統御システム分野



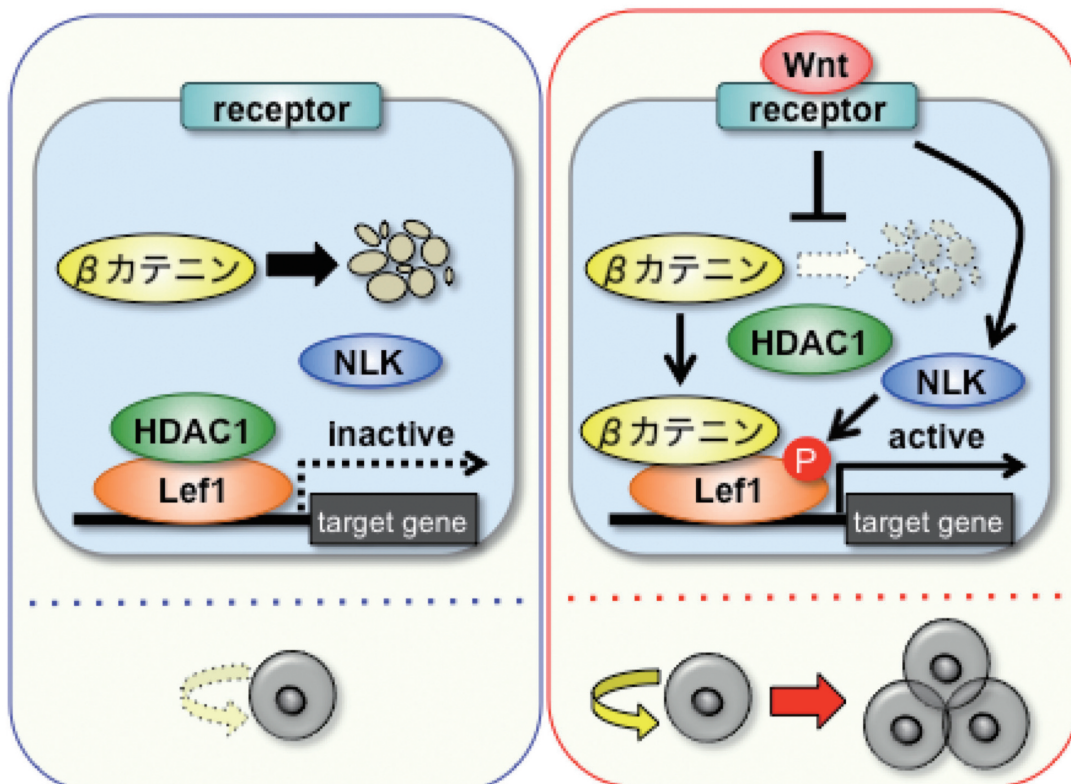
Ota S, Ishitani S, Shimizu N, Matsumoto K, Itoh M, Ishitani T.

NLK positively regulates Wnt/ β -catenin signalling by phosphorylating LEF1 in neural progenitor cells.

EMBO J. 2012 Feb 28;31(8):1904-15. doi: 10.1038/emboj.2012.46.

Wnt/ β カテニンシグナルは、幹細胞や前駆細胞の増殖や、がん等の疾患の発症に関わる重要なシグナル伝達経路である。このシグナル経路は、細胞が Wnt 分子を受容することにより活性化し、転写因子 Lef1 を介して標的遺伝子の転写を活性化する。私たちは以前、Lef1 をリン酸化する酵素として NLK を見だしていた。しかしながら、脊椎動物個体における NLK による Lef1 リン酸化の意義は不明であった。そこで私たちは、モデル脊椎動物ゼブラフィッシュを用いてこれを解析した。NLK をゼブラフィッシュ胚において機能阻害したところ、形成途上の中脳の神経前駆細胞において Wnt/ β カテニンシグナル活性と細胞増殖活性が低下した。この低下は、疑似リン酸化状態の Lef1 の強制発現により回復した。これらの

結果は、中脳において NLK が Lef1 のリン酸化を介して Wnt/ β カテニンシグナルを正に制御し、神経前駆細胞の増殖を促進していることを示唆する。続いて私たちは、哺乳動物の神経前駆細胞様細胞株を用いて、NLK と Wnt/ β カテニンシグナルの関係を詳細に検討した。その結果、Wnt 分子を受容していない神経前駆細胞ではヒストン脱アセチル化酵素 HDAC1 が Lef1 に結合して Lef1 の転写活性を抑制しており、一方で、Wnt 分子を受容した前駆細胞では NLK が活性化し、活性化した NLK が Lef1 をリン酸化して Lef1 と HDAC1 の結合を弱め、Lef1 の転写活性を促進すること（図）が明らかになった。このように、神経前駆細胞における新たな Wnt/ β カテニンシグナル制御機構を発見した。



編集後記

今回のニュースレター第3号におきましても、前回の第2号に引き続き公募班の各先生方の思いが詰まったユニークな原稿が多数寄せられました。本研究領域も3年目の中間点に入り、領域の中心コンセプトとして掲げて参りました「異分野連携」のビジョンの下、既に多くの研究成果が出始めております。今回のニュースレターでも代表的な成果発表についてご紹介しておりますので、是非ご覧下さい。領域代表の井上純一郎先生を中心とする総括班のイニシアティブの下、領域主催の各種イベントを通して異分野連携のみならず、シニアと若手の間の連携も深まってきております。来年度はいよいよ4年目、充実の年とするべく領域活動もますます加速度を増していくことと思われまますので、引き続き変わらぬご支援の程、どうぞ宜しくお願い致します。

(尾山 大明)

新学術領域研究「修飾シグナル病」ニュースレター

発行日 平成 25 年 1 月

発行 翻訳後修飾によるシグナル伝達制御の分子基盤と疾患発症におけるその破綻
領域代表者 井上純一郎

東京大学医科学研究所 癌・細胞増殖部門 分子発癌分野

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

TEL: 03-5449-5275 FAX: 03-5449-5421

E-mail: <info@shushoku-signal.com>

編集 尾山 大明



<http://shushoku-signal.com/>