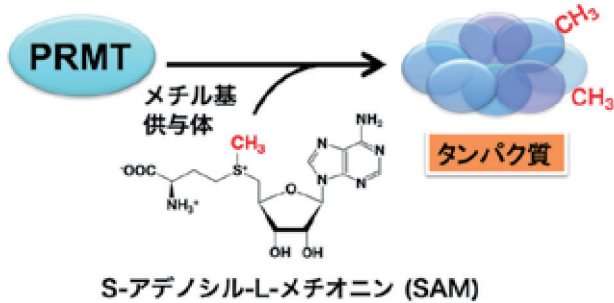


代謝ダイナミクス

「アルギニンメチル化反応の新しい機能」

発達期の脳の炎症は、損傷や胎児期の母体の感染等によって引き起こされ、脳の発達に深刻なダメージを与えることが知られている。我々の先行研究から、アルギニンメチル化酵素 PRMT1 の脳特異的欠損マウス (cKO マウス) では、ミエリン塩基性タンパク質の合成が阻害され、ミエリン (神経細胞の髄鞘) 形成が著しく低下していることと、生後約 2 週間で致死となることが判明していた。2020 年度に我々は、出生直後の KO マウス脳の遺伝子発現パターンを網羅的に解析し、KO マウスは炎症関連遺伝子の増加など、既存の脳内炎症モデルと類似したパターンを示すことを明らかにした。さらに、KO マウス脳ではグリア細胞のアストロサイトやミクログリアの異常増加も認められ、これらは炎症シグナルを介していることが示唆された。今後、cKO マウスが脳の炎症と発達の関係を知る有用なモデルとなることが期待される。

PRMT1, a major arginine methyltransferase, plays critical roles in transcription, DNA damage response, and cell proliferation. Although we have previously discovered the crucial roles of PRMT1 for oligodendrocyte lineage progression in the central nervous system of neural stem cell-specific PRMT1 conditional knockout (PRMT1-cKO) mice, the context of other glial cell states that may cause the hypomyelination phenotype in PRMT1-cKO mice has not been explored so far. In this project, we performed RNA-seq of the neonatal cortices of PRMT1-cKO mice to reveal overall gene expression changes and show the up-regulation of inflammatory signaling which is generally mediated by astrocytes and microglia in advance of the myelination defects. The gene expression changes leading to the increased protein levels of glial fibrillary acidic protein and vimentin in PRMT1-cKO mice showed severe reactive astrogliosis after birth. Our results indicate that PRMT1 loss in the neural stem cell lineage causes disruptive changes in all glial types perturbing postnatal brain development and myelination.



タンパク質のアルギニンメチル化修飾



2020年度 金先生 online 壮行会

プロジェクトメンバー

教授
深水 昭吉

講師・助教
石田 純治
大徳 浩照
金 俊達
加香 孝一郎 (生命環境系)

田島 達也 (博士研究員)

生命地球研究群
(生命農学学位プログラム)
穴井 和美

生命環境科学研究科
(生物機能科学専攻
・博士後期課程)
安藝 杏梨
藤高 啓右
矢野 秀法
岡村 浩

グローバル教育院
姚 遠 (HBP)

生命環境科学研究科
(生物資源科学専攻
・博士前期課程)
田原 早央莉
林 岳宏
霍 思全
佐瀬佐保子
笠井 郁也
(フロンティア医科学学位プログラム)

人間総合科学研究科
室町 直人
(フロンティア医科学専攻)

生命地球研究群
(生物資源科学学位プログラム)
岸川 奈那
染谷 百香
中村 夏奈子
春木 陽香理
森 遙佳
張 文瑜 (国際農業科学プログラム)

生物資源学類
植竹 徹
鬼頭 さくら

秘書
飯島 美穂
川崎 結子

研究概要

【脳におけるタンパク質アルギニンメチル化の新しい意義の解明】

私たちの体で働くタンパク質は10万種類以上といわれているが、多様な化学修飾を受けることで、その機能をスムーズに発揮したり変化させたりしている。化学修飾の一つであるアルギニンメチル化は、まだ不明な点が多いものの、細胞増殖や老化への関与が示されており、その重要性が注目されている。

アルギニンメチル化を触媒する酵素 PRMT1 を全身で欠損したマウスは、胎生期に致死となることから、PRMT1 が個体発生に必須であることが知られていた。我々は、脳の発達における PRMT1 の機能の解明に着手し、脳の神経幹細胞において特異的に PRMT1 を欠損したマウス (cKO マウス) を作製し解析してきた。これまでの研究から、cKO マウスが生後1週間でミエリン(髄鞘)形成不全をおこし、生後約2週間で致死となることから、PRMT1 が脳の発達に必須の酵素であることを証明してきた (*J. Biol. Chem.* 291, 2237-2245, 2016)。しかし、PRMT1 がどのように脳の発達を制御しているのか、その詳しい仕組みや、PRMT1 がミエリン形成以外の脳細胞の発達に与える影響も十分に理解されていなかった。

本研究では、cKO マウスの脳の発達が生後1~2週間に顕著な異常を示すことから、より早期(生後0日目=脳の発達途中)のcKO マウスを解析した。まず、cKO マウス大脳皮質で起きる分子レベルの変化



図1. PRMT1 欠損マウスの脳の遺伝情報解析

を捉えるため、RNA シークエンシング解析によって遺伝子発現を網羅的に調べたところ(図1)、野生型マウスに比べてcKO マウスでは、炎症性サイトカインや炎症を伝達する受容体(ケモカイン受容体)の遺伝子発現が顕著に増加していた。変化した遺伝子群を詳しく調べると、既存の脳内炎症モデルに類似した発現パターンを示していることからcKO マウス脳では炎症シグナルが誘導されていることが判明した。さらに遺伝子発現レベルの継続的变化を見ていくと、炎症状態が生後の脳発達に伴って徐々に強まっていくことも見出した。次に、脳組織の解析などから、cKO マウス大脳皮質では、活性化型のアストロサイトやミクログリアが異常に増加していることが明らかになった(図2)。

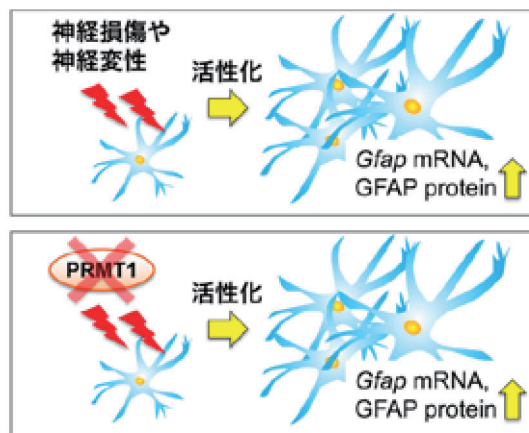


図2. PRMT1 欠損によるアストロサイトの活性化

これらの細胞は、脳損傷をはじめ自閉症や神経変性疾患において活性化型に変化して細胞数も増加し、病態の悪化に関与することが知られている。また、脳内の炎症は、ミエリンや脳自体の発達を阻害する一要因になるといわれている。そのため、cKO マウスでは、脳の発達中にアストロサイトやミクログリアが活性化して脳内炎症時と同じような環境となり、ミエリン形成などの発達に不利な状況を生み出したと考えられた（図2）。

本研究から、PRMT1 を欠損すると、神経幹細胞がアストロサイトなどを生み出すステップのどこかで炎症状態を誘導することが判明した。今後は、その変化をもたらすメチル化ターゲットの同定により、PRMT1 の機能の理解が進むと考えている。今回用いた cKO マウスは、たった一つの修飾酵素の欠損で、グリア細胞活性化を伴う脳内炎症誘導とミエリン形成不全・脳発達異常の特徴を併せ持ち、炎症シグナルが脳の発達に及ぼす影響について調べる有用なモデルとして貢献することが期待される（*J. Neurochem.* 156, 834-847, 2021）。

【シグナル伝達と老化した脳の修復力】

脳や脊髄の神経回路が傷つく疾患では、傷ついた神経回路はしばしば自然に修復することが知られている。また、そのような神経回路の修復力は、加齢に伴い低下する。その原因の一つに、神経回路そのものの修復能力の劣化が指摘されているが、その分子メカニズムは十分に解明されていない。

ミエリン（髄鞘）は神経機能の発揮に重要な役割を担う構造体であり、髄鞘の修復にはオリゴデンドロサイト前駆細胞を分化させることが必要であるが、加齢に伴い分化能が低下することが知られている。加齢に伴うオリゴデンドロサイトの分化能力の低下には、オリゴデンドロサイト内の分子発現の変化に関わることを報告されていたが、「鍵分子」の理解は不十分であった。

国立精神・神経医療研究センター（NCNP）神経研究所の村松里衣子部長（神経薬理研究部）らとの共同研究によって、髄鞘が修復しやすい条件のオリゴデンドロサイトに豊富に発現する分子として、血管の平滑筋細胞と内皮細胞の両者に発現するホルモン受容体 APJ（図3）を見出した。オリゴデンドロサイトに発現する APJ 受容体を欠損したマウスでは、髄鞘形成や運動機能の不良が顕著なことが判明した。また、高齢マウスの実験から、体内の APJ 受容体のリガンドであるアペリン量が低下していることや、APJ 受容体を活性化させると傷ついた髄

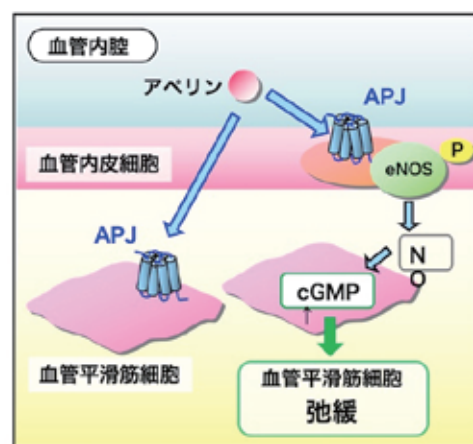


図3. アペリン-APJ 受容体シグナル

鞘の修復が促進されることが明らかになった（図 4）。本研究から、老化脳を修復させるメカニズムの一端の理解が進んだことから、今後は、アペリンと APJ 受容体がどのように脳機能を改善していくかについて研究を進めることが可能になり、多発性硬化症など、髄鞘の傷害が見られる疾患に対する治療薬の開発につながることを期待される（*Nature Aging* 1, 284-294, 2021）。

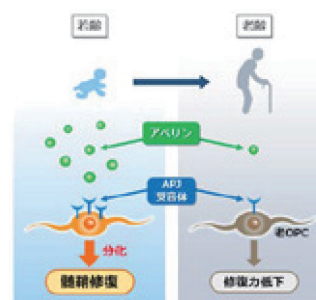


図4. 加齢による髄鞘修復能

【これからの展開】

化学情報・生理情報・遺伝情報の融合研究の開拓

メチル化に着目した修飾酵素の研究は、ヒストンの機能変化や遺伝子発現の調節と直結する成果となるため、タンパク質のリジン残基とアルギニン残基に関する研究が大きく先行している。修飾酵素の研究を転写研究の一環として捉えるか、より大きな視点として捉えるかは、どのような研究の戦略を取るかに掛かっている。現在では、ヒストンや特定の基質タンパク質との結合や作用の関係を明らかにしている研究が多数あり、多くの生命現象が説明されている。現在研究室では、そのような研究に加えて、タンパク質メチル化の全体像を捉える研究戦略も展開し、点変異を導入することでマウスにおいてアルギニンメチル化のヒト型酵素を導入することに成功するとともに、タンパク質のリジン残基やアルギニン残基に続く、ヒスチジン残基の研究を発展させている。

マウスや線虫の動物モデルの作製と解析の視点から、老化や疾患の基本原則に関する化学情報、生理情報、遺伝情報から得られる智見を、横断的そして縦断的に深化、俯瞰して研究を進めることで、生体恒常性の基本原則の理解や、創薬・ドラッグリポジショニングへの応用に対して、今までにないヒントが得られるものと期待している。また、食品から摂取される栄養調節という側面からも新しい情報が提供できると考えている。近年、急速な少子高齢化が進む我が国にとって、高齢者の健康維持や疾病予防を実現する「健康寿命の延伸」は重要な課題である。今後も「代謝ダイナミクス」プロジェクトでは、線虫とマウスというモデル動物を活用しながら、生物の生存戦略の重要性を解き明かし、国民の健康維持に貢献していきたい。

（参考）以上の研究は、2020年度に筑波大学からプレスリリースされた。

<https://www.tsukuba.ac.jp/journal/medicine-health/20210316010000.html>

<https://www.tsukuba.ac.jp/journal/biology-environment/20200916183842.html>

2020 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

M. Hashimoto, A. Kumabe, J.D. Kim, K. Murata, S. Sekizar, A. Williams, W. Lu, J. Ishida, T. Nakagawa, M. Endo, Y. Minami, and A. Fukamizu (2021)

Loss of PRMT1 in the central nervous system (CNS) induces reactive astrocytes and microglia during postnatal brain development. **J. Neurochem.** 156, 1834-847.

M. Ito, R. Muramatsu, Y. Kato, B. Sharma, A. Uyeda, S. Tanabe, H. Fujimura, H. Kidoya, N. Takakura, Y. Kawahara, M. Takao, H. Mochizuki, A. Fukamizu, and T. Yamashita. (2021)

Age-dependent decline in remyelination capacity is mediated apelin-APJ signaling. **Nature Aging** 1, 284-294.

S. Matsuda, J.D. Kim, F. Sugiyama, Y. Matsuo, J. Ishida, K. Murata, K. Nakamura, K. Namiki, T. Sudo, T. Kuwaki, M. Hatano, K. Tatsumi, A. Fukamizu, and Y. Kasuya (2020)

Transcriptomic evaluation of pulmonary fibrosis-related genes: utilization of transgenic mice with modifying p38 signal in the lungs. **Int. J. Mol. Sci.** 21, 6746.

K. Suzuki, J.D. Kim, K. Ugai, H. Mikami, K. Yoshioka, J. Ikari, M. Hatano, A. Fukamizu, K. Tatsumi, and Y. Kasuya (2020)

Transcriptomic changes involved in the dedifferentiation of myofibroblasts derived from the lung of a patient with idiopathic pulmonary fibrosis. **Mol. Med. Rep.** 22, 1518-1526.

A. Fujimura, Y. Hayashi, K. Kato, Y. Kogure, M. Kmeyama, H. Shimamoto, H. Daitoku, A. Fukamizu, T. Hirota, and K. Kimura (2020)

Identification of a novel nucleolar protein complex required for mitotic chromosome segregation through centromeric accumulation of Aurora B. **Nucleic Acids Res.** 48, 6584-6596.

総説

M. Hashimoto, A. Fukamizu, T. Nakagawa, and Y. Kizuka (2021)

Roles of protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1) in brain development and disease. **Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.** 1865, 129776.

学会発表等

野口和之、石田純治、金俊達、室町直人、加香孝一郎、金子修三、臼井丈一、山縣邦弘、深水昭吉

“H3 受容体アゴニストの抗炎症作用を介した心腎病態保護作用の解明”

第 63 回日本腎臓学会学術総会. 2020.8.19. Web 開催

張 文瑜、田島 達也、大徳 浩照、染谷 百香、加香 孝一郎、深水 昭吉

“線虫を用いたタンパク質アルギニンモノメチル化酵素の同定と機能解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.14. Web 開催

春木 陽香理、大徳 浩照、田島 達也、加香 孝一郎、深水 昭吉

“線虫の新規ヒスチジンメチル化酵素 METL-18 の自己メチル化と生物学的意義の解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.14. Web 開催

姚 遠、室町 直人、金 俊達、深水 昭吉

“Study on the effect of H179Y one-point mutation in murine PRMT1 on biological functions”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.14. Web 開催

田島 達也、張 文瑜、大徳 浩照、深水 昭吉

“線虫の精子特異的タンパク質におけるアルギニンメチル化制御機構の解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.14. Web 開催

室町 直人、金 俊達、石田 純治、野口 和之、深水 昭吉

“ヒスタミン H3 受容体アゴニストの心腎病態での遺伝子発現プロファイリング”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

深水 昭吉

“タンパク質メチル化酵素の組織特異的機能の多様性”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

森 遥佳、田原 早央莉、金 俊達、深水 昭吉

“PRMT8 が有するアルギニンメチル化活性の生物学的意義に関する研究”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

染谷 百香、大徳 浩照、加香 孝一郎、深水 昭吉

“siRNA スクリーニングによる新規ヒスチジンメチル基転移酵素の探索”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

中村 夏奈子、金 俊達、権 哲源、深水 昭吉

“心筋細胞特異的遺伝子欠損マウスを用いた METTL18 の機能解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

田原 早央莉、金 俊達、陸 偉哲、深水 昭吉

“宇宙マウス心臓を用いた遺伝情報の統合的解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

大徳 浩照、田島 達也、春木 陽香理、染谷 百香、加香 孝一郎、深水 昭吉

“線虫における新規ヒスチジンメチル化酵素 METL-18 の機能解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

加香 孝一郎、中原 大輔、大徳 浩照、深水 昭吉

“線虫 (*C. elegans*) 開始メチオニン tRNA の精製とそのメチル化解析”

第 93 回日本生化学会大会. 2020.9.16. Web 開催

大徳 浩照、田島 達也、春木 陽香理、染谷 百香、加香 孝一郎、深水 昭吉

“Molecular function and biological significance of protein histidine methyltransferase METL-18 in *C. elegans*”

第 43 回日本分子生物学会年会 2020.12.08. Web 開催 (招待講演/英語)

Keiko Hirota, Eriko Katada, Seiji Ishihara, Mariko Kojima, Koichiro Kako, Akiyoshi Fukamizu
The role of *phosphoethanolamine methyltransferase-1* in regulating the lifespan of *Caenorhabditis elegans*

第 43 回日本分子生物学会年会 2020.12.02. Web 開催 (招待講演/英語)

室町直人、石田純治、野口和之、金俊達、深水昭吉

“Cardiac profiling of gene expression in a mouse model of cardio-renal association with the histamine H3 receptor agonist”

第 24 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会. 2021.3.12. Web 開催

安彩伽、大前勇馬、有本光江、加香孝一郎、磯田博子、深水昭吉、繁森英幸、宮前友策

“生体直交型反応を示す官能基を付加した PPAR γ リガンドの合成と活性評価”

日本農芸化学会 2021 年度大会. 2021.3.18. Web 開催

受賞

K. Nagano, C. Kwon, J. Ishida, T. Hashimoto, J.D. Kim, N. Kishikawa, M. Murao, K. Kimura, Y. Kasuya, S. Kimura, Y.C. Chen, H. Tsuchimochi, M. Shirai, J.T. Pearson, and A. Fukamizu. (2019) Cooperative action of APJ and α 1A-adrenergic receptor in vascular smooth muscle cells induces vasoconstriction. **J. Biochem.** 383–392.

2020 年度第 28 回日本生化学会 JB 論文賞

室町直人(人間総合科学研究科 フロンティア医科学専攻)

第 93 回 日本生化学会大会 若手優秀発表賞

アウトリーチ

深水昭吉

出張講義 「遺伝子が教えてくれる人類の過去と未来」

埼玉県立川口北高等学校 (令和 2 年 10 月 28 日)

深水昭吉

出張講義

茨城県立土浦第二高等学校 (令和 2 年 11 月 6 日)

深水昭吉

出張講義 静岡県立三島北高等学校 (令和 2 年 11 月 9 日)

学会および社会的活動

深水昭吉

日本生化学会・常務理事, 日本新血管内分泌代謝学会・理事、日本高血圧学会・評議員, 日本妊娠高血圧学会・代議員

東北大学 学際科学フロンティア研究所 (運営協議会委員)

独立行政法人大学改革支援・学位授与機構 (国立大学教育研究評価委員会専門委員)

筑波大学 医学医療系トランスボーダー医学研究センター (評価委員会委員)

公益財団法人 山口内分泌疾患研究振興財団 (研究助成審査委員)

公益財団法人 日本応用酵素協会 (選考委員)

公益財団法人 東京生化学研究会 (選考委員)

公益財団法人 国際科学振興財団 (兼任研究員)

一般社団法人 キヤノン財団研究助成 (選考委員)

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

深水昭吉

研究種目名：研究助成（武田科学振興財団：特定研究助成）

研究課題名：遺伝情報の定量解析から捉える心腎ネットワークの基盤的研究

研究期間：2020年度～2023年度

深水昭吉

研究種目名：基盤研究(A)

研究課題名：RNAメチル化を介した栄養情報と生物寿命

課題番号：17H01519

研究期間：2017年度～2020年度

深水昭吉

研究種目名：産学協同実用化開発事業（NexTEP）

研究課題名：炎症性腸疾患における新たなバイオマーカーの検討

研究期間：2014年度～2020年度

深水昭吉

研究種目名：共同研究費（宇部興産）

研究課題名：部材を用いる細胞培養に関する研究

研究期間：2014年度～2020年度

深水昭吉

研究種目名：奨励金・研究助成（内藤記念科学振興財団）

研究課題名：宇宙環境（微小重力）における心臓の応答機構と次世代への影響

研究期間：2019年度～2021年度

深水昭吉

研究種目名：奨励金・研究助成（宇部興産）

研究課題名：「生物機能の研究」に関する研究助成

研究期間：2014年度～2020年度

大徳浩照

研究種目名：基盤研究（B）

研究課題名：ヒスチジンメチル化酵素 METLL9 の活性制御機構と生物学的意義の解明

課題番号 : 20H02947
研究期間 : 2020 年度～2023 年度

金 俊達

研究種目名 : 基盤研究 (C)
研究課題名 : 一酵素・ニ活性 (PRMT8) の生物学的意義の解明
課題番号 : 18K05429
研究期間 : 2018 年度～2020 年度

加香孝一郎

研究種目名 : 基盤研究 (C)
研究課題名 : タンパク質アルギニンメチル化修飾の個体機能の解明
課題番号 : 17K01942
研究期間 : 2017 年度～2020 年度