

TARA

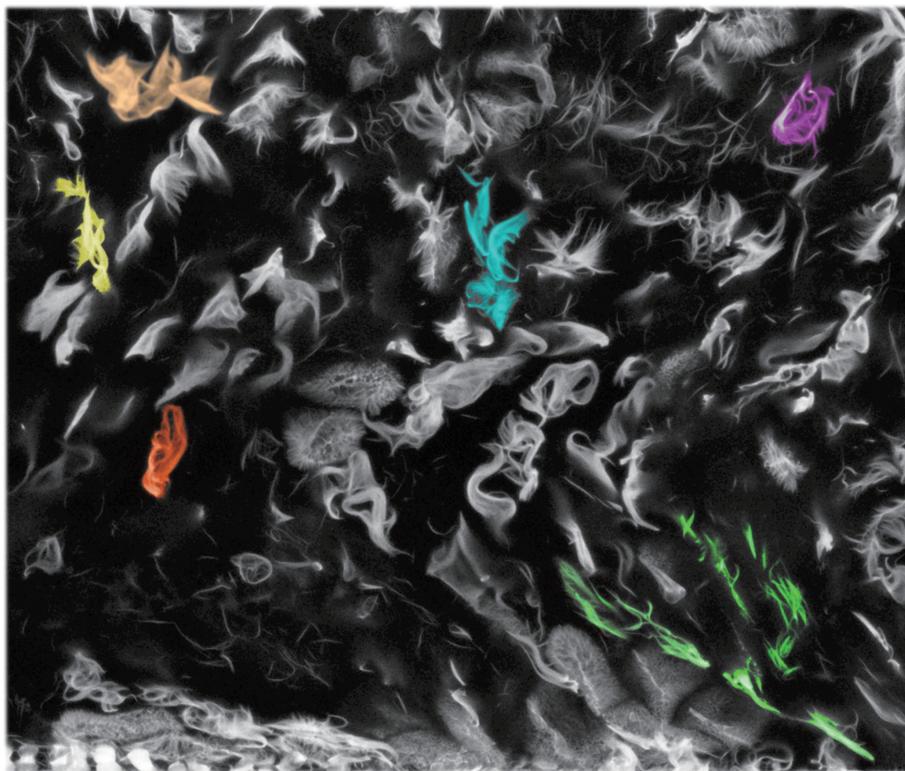
NEWSLETTER

No.10

April 2023

Life Science Center for Survival Dynamics, Tsukuba Advanced Research Alliance (TARA)

University of Tsukuba



CONTENTS

◆ 活動報告

海外教育研究ユニット招致による

国際共同研究の開始 2

論文プレスリリース 3

学会賞等受賞報告 8

TARAプロジェクト採択結果 8

<https://www1.tara.tsukuba.ac.jp>

海外教育研究ユニット招致による国際共同研究の開始

Institut Curie (キュリー研究所, フランス) との共同研究 (海外教育研究ユニット招致制度 令和4年度採択)

研究課題名	研究者氏名
がん患者の全身性代謝異常を緩和する腸内細菌叢デザインに向けた基礎研究の推進	受け入れ研究者：丹羽 隆介 副 PI 助教：佐奈喜 祐哉 〔PI教授：Pierre Léopold〕

ご挨拶: 共同研究の開始にあたって【佐奈喜 祐哉先生】

筑波大学における研究戦略イニシアティブ推進機構の活動の一つとして、「海外教育研究ユニット招致」があります。この事業では、著名な在外研究者の率いる研究室を筑波大学内に招致し、世界トップレベルの教育研究拠点の創出や国際共同研究の強化などを目的としています。

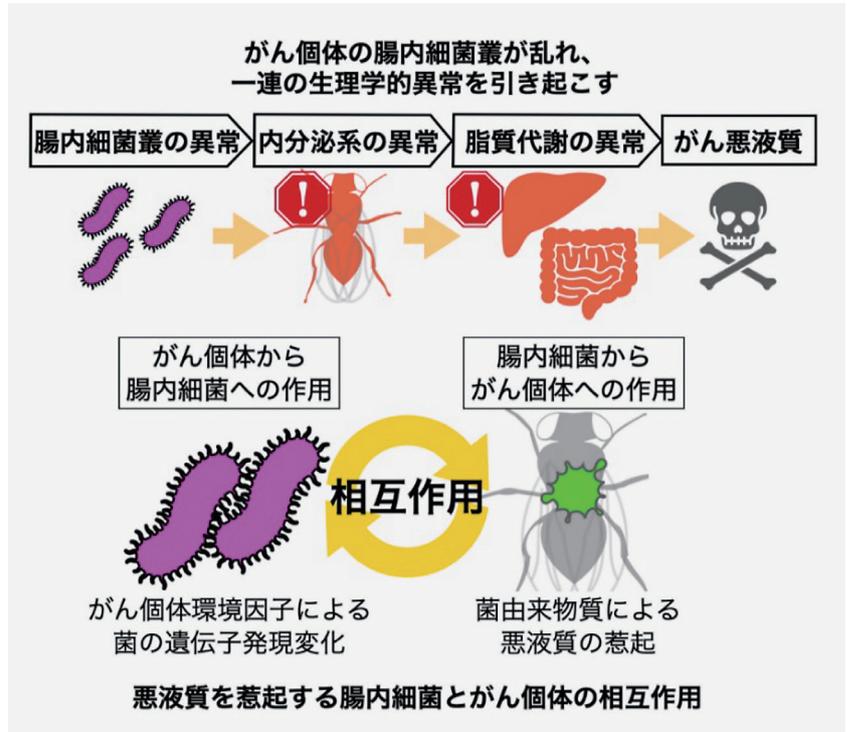
丹羽隆介教授（生存ダイナミクス研究センター）を受け入れ責任研究者として、Pierre Léopold 博士（フランスのキュリー研究所ユニットディレクター、同チームリーダー、フランス科学アカデミー会員、欧州アカデミー会員）を PI、私を副 PI とするユニット Laboratory of Genetics and Physiology が令和4年度から、生存ダイナミクス研究センター B 棟 2 階にてスタートしています。研究室の開設にあたっては、丹羽隆介先生を始め、柳沢裕美先生ならびに岡林浩嗣先生に大変お世話になりました。この場を借りて深く感謝申し上げます。



当ユニットは、がん患者の全身性代謝異常を緩和する腸内細菌叢デザインに向けた基礎研究の推進を目的とし、主にショウジョウバエをモデル生物に研究を進めています。「腸内細菌も含めた共生体」としてがん個体を捉えることで、がんを起点とする代謝異常や、代謝異常がどのようにがん個体へ死をもたらすのか、そのメカニズムを明らかにし、制御を可能にするための介入ポイントを探索しています。

既に、当ユニットではキュリー研究所のメタボロミクス・リポドミクスプラットフォームと協力して代謝解析を行っており、手がかりを得はじめています。

今後は筑波大学の充実した研究環境を活かし、ユニットとしての研究成果を最大限に発信していきます。



令和5年10月には第1回目の日仏交流を計画しており、PIのピエール先生が筑波大学に訪問し講義やセミナー、国内の関係研究者をお招きしての小規模な研究会などを企画しています。来年度以降も、筑波大学から始まる日仏研究交流を進めていきたいと考えています。

表皮幹細胞を老化から守る仕組みの解明 ～皮膚の抗老化因子として細胞外マトリクスに期待～

熊本大学国際先端医学研究機構 (IRCMS) の佐田亜衣子特任准教授、筑波大学生存ダイナミクス研究センターの柳沢裕美教授らの研究グループは、細胞外マトリクス fibulin-7 が、表皮幹細胞周囲の微小環境を構築することで、皮膚の老化を防ぐ鍵になる因子の一つであることを解明しました。本研究成果は、老化した表皮幹細胞や環境因子を標的とした皮膚の老化予防・制御法の創出へとつながることが期待されます。

皮膚は、外的・内的ストレスを常に受けながらも、柔軟に応答し、組織を回復する力を持つレジリエンスの高い臓器の一つですが、加齢とともに徐々にその能力を喪失していきます。佐田らは、先行研究において、表皮幹細胞には、分裂の早い集団、遅い集団のそれぞれが存在することを発見し、表皮幹細胞に分裂不均一性があることを提唱してきました。本研究では、2つの表皮幹細胞の集団バランスを担う環境因子として細胞外マトリクスである fibulin-7 が重要であることを見出しました。

参考図

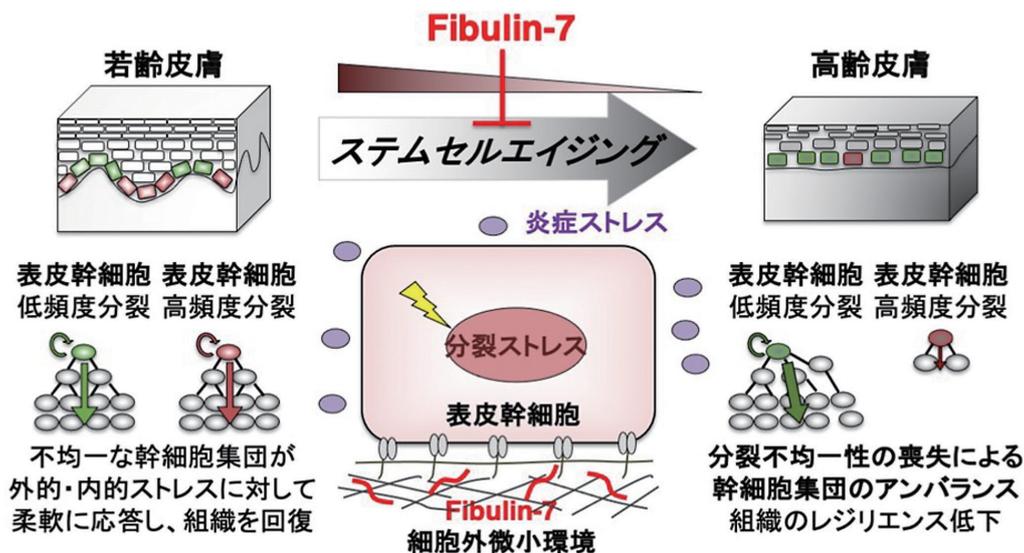


図 細胞外マトリクス fibulin-7 を介した表皮幹細胞制御

加齢に伴い、分裂頻度の高い表皮幹細胞集団が失われ、幹細胞集団の不均衡が生じる。Fibulin-7 は、表皮幹細胞周囲の微小環境を構築し、外的・内的ストレスに対して表皮幹細胞を保護する機能を持つ。

用語解説

*1) レジリエンス

ストレスや危機的な状況に対して、しなやかに適応し、回復して元に戻る力。生物学におけるレジリエンスは、①DNA損傷や酸化ストレス等の細胞レベルで起こるストレスや刺激、②組織損傷、感染、紫外線といった組織・個体レベルで晒れる一過的、かつ急性の因子に対する生体反応として解釈される。

*2) ステムセルエイジング

加齢に伴って、組織の大元の細胞である幹細胞自身が機能低下や破綻を起こし、老化の原因となっているという説。

*3) 細胞外マトリクス

細胞の外に局在する高分子複合体の総称で、組織や細胞の機能制御に必須の役割を果たす。コラーゲンや糖タンパク質、プロテオグリカンなど、多様な分子から構成される。

【題名】 The extracellular matrix fibulin 7 maintains epidermal stem cell heterogeneity during skin aging (細胞外マトリクス fibulin-7 は、皮膚老化における表皮幹細胞の不均一性維持にはたらく)

Erna Raja, Gopakumar Changarathil, Lalhaba Oinam, Jun Tsunozumi, Yen Xuan Ngo, Ishii Ryutaro, Sasaki Takako, Imanaka-Yoshida Kyoko, Yanagisawa Hiromi, Sada Aiko
EMBO Reports, 23: e55478 (2022)

神経幹細胞の生存を維持させるタンパク質の化学修飾 アルギニンメチル化修飾は神経幹細胞の増殖や生存に必須

岐阜大学応用生物科学部の中川寅教授、橋本美涼助教(以上、生物化学研究室)、千葉大学大学院医学研究院の粕谷善俊准教授、筑波大学生存ダイナミクス研究センターの深水昭吉教授らのグループは、タンパク質のアルギニンメチル化修飾が脳の大元である神経幹細胞の増殖や生存に必須であることを明らかにしました。神経幹細胞は、中枢神経系を構成するニューロンやグリア細胞を生み出す元になる細胞です。アルギニンメチル化酵素 PRMT1 は神経幹細胞で豊富に存在しますが、神経幹細胞の重要な性質の一つである細胞増殖における機能はわかっていませんでした。そこで本研究では、神経幹細胞で特異的に PRMT1 を欠損させたマウス (PRMT1-KO) を使い、神経幹細胞の培養実験による細胞の増殖能の評価や、脳の組織学的解析を実施しました。

解析の結果、野生型マウス由来の神経幹細胞に比べ、PRMT1-KO 由来の神経幹細胞では増殖能が著しく低下するとともに、細胞死が誘導されることがわかりました(図 1)。このことは、PRMT1 によるアルギニンメチル化が、神経幹細胞の生存や増殖に必須であることを示しています。一方で興味深いことに、PRMT1-KO マウス胎仔脳内において、神経幹細胞は正常な増殖や分布を示すことが確認されました(図 2)。この観察結果は、PRMT1-KO マウス脳内には神経幹細胞の死を阻止する恒常性維持の仕組みがあることを示唆しています。そこで、PRMT1-KO マウス脳内の栄養因子や細胞外分泌因子の発現を調べたところ、細胞外マトリックスの一つであり、神経幹細胞の増殖への寄与が報告されているラミニンの構成遺伝子の一つである *Lama1* の発現が有意に増加していることがわかりました(図 3)。

以上より、(1) 神経幹細胞において、PRMT1 は細胞の増殖や生存を制御することを明らかとしたことに加え、(2) PRMT1 を欠損した脳内では、脳の発達や恒常性維持のために、“神経幹細胞の生存を助けるような働きかけ”が起きている可能性が示されました。今後の研究では、上述の(1)および(2)の両方についてさらに追究することで、移植治療に適した神経幹細胞の調製方法の確立といった再生医学へ貢献することが期待されます。

本研究成果は、日本時間 2022 年 11 月 10 日に *Frontiers in Neuroscience* 誌のオンライン版で発表されました。

参考図

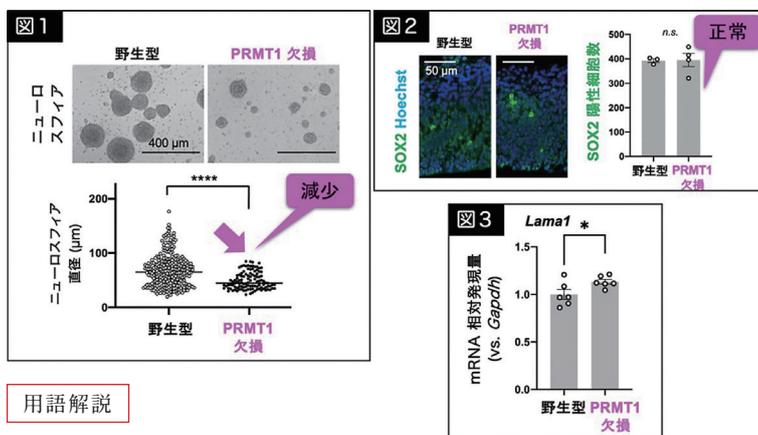


図 1. 神経幹細胞の増殖能評価 (培養下)

神経幹細胞が増殖して形成される細胞塊“ニューロスフィア”の顕微鏡下観察。PRMT1 欠損ではニューロスフィアの数・大きさともに減少していた。グラフはニューロスフィア直径の定量結果 (n>100, ****p<0.0001)

図 2. 神経幹細胞の分布・増殖評価 (胎仔マウス脳内)

SOX2 陽性で示される神経幹細胞は、PRMT1-KO 脳内では正常な分布を示した (SOX2: 緑色、Hoechst: 青色 [細胞の核を染色])。

図 3. PRMT1-KO 脳内における分泌因子の発現

神経幹細胞増殖に寄与するラミニンの構成遺伝子 *Lama1* が PRMT1-KO 脳で増加した (*p<0.05)。

用語解説

- *1) 神経幹細胞
中枢神経系(脳および脊髄)を構築する大元の細胞。自己複製し、胎児期に活発に増殖するとともにニューロンやグリア細胞を生み出すことで脳を形作る。再生医学分野では、脳損傷などへの移植治療による組織修復が期待されている。
- *2) PRMT1(ピーアールエムティー 1: *protein arginine methyltransferase 1*)
タンパク質アルギニンメチル基転移酵素1。アルギニン部位のメチル化は、細胞内の様々なタンパク質で認められる化学修飾の一つであり、タンパク質の局在や他のタンパク質との相互作用に影響を与えることで、細胞増殖や遺伝子発現制御といった多様な細胞機能を制御する。
- *3) ニューロスフィア
神経幹細胞を浮遊培養した際に形成される球状の細胞塊。神経幹細胞自体の増殖(自己複製)や細胞同士の接着によって形成される。ニューロスフィアの数やサイズを調べることで細胞の増殖能や自己複製能を評価できる。

【題名】 Regulation of neural stem cell proliferation and survival by protein arginine methyltransferase 1

Hashimoto Misuzu, Takeichi Kaho, Murata Kazuya, Kozakai Aoi, Yagi Atsushi, Ishikawa Kohei, Suzuki-Nakagawa Chiharu, Kasuya Yoshitoshi, Fukamizu Akiyoshi, Nakagawa Tsutomu
Frontiers in Neuroscience, 16 : 948517 (2022)

血管狭窄時の新生内膜形成に内皮間葉転換が寄与する ～血管リモデリングの仕組みを解明～

血管の内表面(上皮)を構成する血管内皮細胞が非上皮系の間葉細胞へと分化転換するプロセス(内皮間葉転換: EndMT)は、さまざまな血管リモデリングに関与することが知られています。しかし、血管狭窄の原因となる新生内膜形成(血管の内側の層が厚くなる)における、EndMTの役割と分子制御機構はこれまで明らかにされていませんでした。本研究では、マウス頸動脈結紮(けっさつ)モデルを用いて、血流が停止した状態によって結紮部位よりも中枢側の頸動脈が狭窄するプロセスを経時観察しました。これまで考えられていた中膜が主体の閉塞ではなく、最も内層の血管内皮細胞が新生内膜形成に寄与することを見いだしました。さらに、血管内皮細胞の形質を維持したままEndMTが生じる現象「部分的な内皮間葉転換: partial EndMT」が狭窄に関わることを明らかにしました。

この分子メカニズムを明らかにするためにヒト動脈内皮細胞を用いて、血流停止を模倣した低酸素環境が、①血球細胞マーカーであるCD45発現を伴ってEndMTを誘導すること②細胞-細胞間の接着を維持する仕組みが、partial EndMTの制御に重要であることを突き止めました。

本研究により、血管狭窄の原因となる新生内膜の由来が血管内皮細胞であること、さらに内皮細胞のEndMTが血管狭窄時の血管リモデリングに寄与することが明らかになりました。今後、partial EndMTの詳細なメカニズムを解明することにより、EndMTを標的とした、血管狭窄の新たな治療法開発につながると期待されます。

参考図

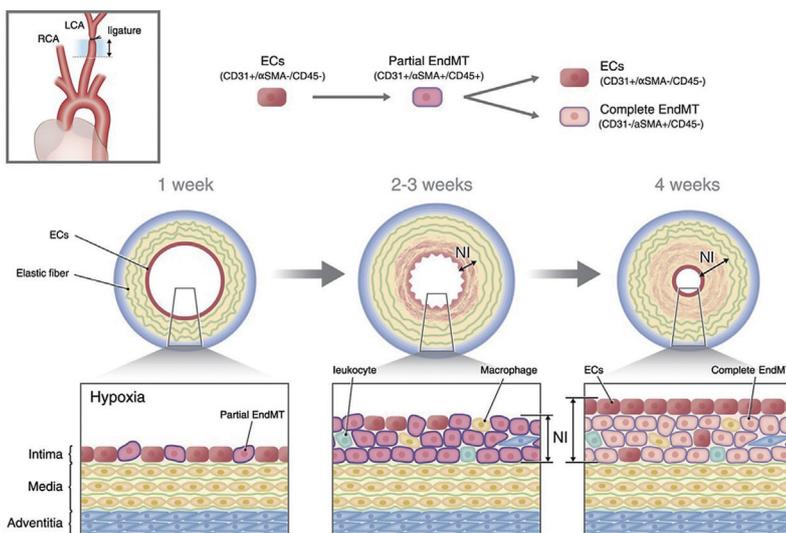


図 頸動脈結紮時における血管狭窄の原因となる新生内膜形成の概略

左上枠内: 左総頸動脈(LCA)を糸で完全結紮(ligation)することにより血流を停止させる頸動脈結紮モデル。右総頸動脈(RCA)は結紮しないため、比較対象として使用する。術後、中枢(心臓)側の部位(両矢印部分: 水色)を採取して解析に用いる。

下図: 頸動脈結紮後の狭窄の進行度合いと血管内皮細胞の関与。術後1週間でIntima(内膜)内の血管内皮細胞において、部分的な内皮間葉転換(partial EndMT: CD31⁺/αSMA⁺/CD45⁺)が観察され、2-3週間で新生内膜(NI)の細胞が増殖し、4週間程度でComplete EndMTへと進行し、新生内膜が形成される。Elastic fiber(弾性線維)、Hypoxia(低酸素)、Media(中膜)、Adventitia(外膜)、Macrophage(マクロファージ)。

用語解説

※1) 血管リモデリング

種々の刺激に対する、血管を構成する細胞(内皮細胞、平滑筋細胞、線維芽細胞)や細胞外マトリクスの変化を伴った、血管の構造及び機能変化。

※2) 新生内膜

血管障害後に形成される血管壁を構成する細胞層。

【題名】 Partial endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT) mediated by HIF-induced CD45 in neointima formation upon carotid artery ligation.

(頸動脈結紮後の新生内膜は、低酸素誘導性のCD45発現による部分的な内皮間葉転換により形成される)

Yamashiro Yoshito, Karina Ramirez, Nagayama Kazuaki, Hattori Naoko, Yu-Yu Liu, Matsunaga Shinji, Tomita Shuhei, Kubota Yoshiaki and Yanagisawa Hiromi
Cardiovascular Research, 119(7): 1606-1618 (2023)

腸は果糖を「味わう」ことで生殖に影響を与える ～交尾と栄養の協調メカニズムを発見～

卵子は次世代に生命を継承する役割を担っており、その形成過程は、個体を取り巻くさまざまな外的要因に影響されます。しかし、外環境の情報が個体の中で処理され、卵形成に影響するメカニズムはよく分かっていません。

ショウジョウバエでは、交尾によってメスの腸内分泌細胞からニューロペプチド F (NPF) というホルモンが分泌され、これが卵巣に受容されると生殖幹細胞の増殖が促されます。本研究では、この交尾依存的な NPF 分泌と生殖幹細胞の増殖には、餌由来の糖の中でもフルクトース(果糖)が選択的に影響を与えることを解明しました。グルコース(ブドウ糖)のみを含有する餌で飼育した場合でも、「ポリオール経路」と呼ばれる代謝経路でグルコースがフルクトースに変換され、これが、腸内分泌細胞に存在する味覚受容体で感知されて NPF の分泌を促しており、グルコース摂取量が不十分だと、生殖幹細胞の増殖および造卵は活性化されませんでした。

以上の結果は、体内で作られた糖を腸が「味わう」ことで栄養状態を感知すること、これが交尾による生殖の活性化に必須であることを、あらゆる動物を通じて初めて示すものです。ポリオール経路は、動物種にかかわらず進化的に保存された代謝経路であり、フルクトースを感知する味覚受容体は、ヒトを含む哺乳動物の腸内分泌細胞にも存在しています。ヒトでは腸内分泌細胞から分泌されるホルモンが生活習慣病の発症に関与することから、今回発見したメカニズムは、ヒトの生殖や代謝の調節、さらに生活習慣病発症の理解にもつながると期待されます。

参考図

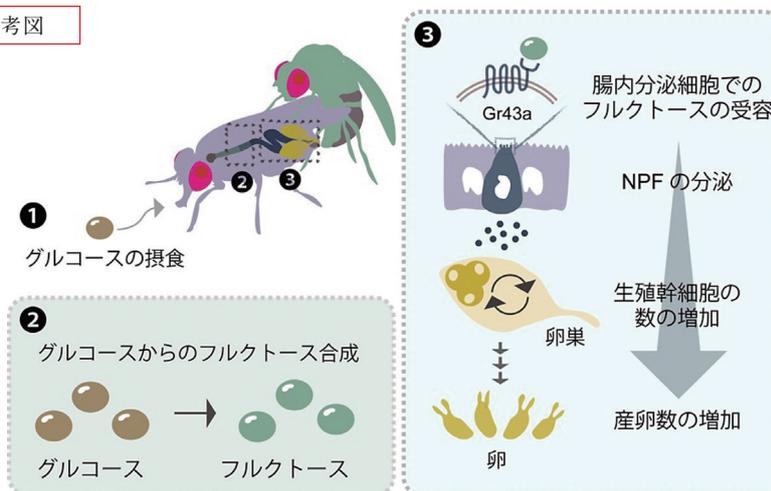


図 本研究で明らかになったメカニズムの概略図

ショウジョウバエのメスはオスと交尾をすると、餌から摂取したグルコースが、体内のポリオール経路によってフルクトースへと変換される。その結果、体内のフルクトース量が増加する。この増加したフルクトースは NPF を産生する腸内分泌細胞 (NPF+EEC) に存在するフルクトースの「味」を感知する受容体 Gr43a に受容される。これが刺激となって NPF+EEC から NPF が分泌され、卵巣に受け取られる。NPF を受容した卵巣では、卵巣内に存在する生殖幹細胞の増殖が活性化し、結果として造卵も活発になる。逆に、餌から摂取できるグルコースが不十分であると、このメカニズムがうまく働かないため、生殖幹細胞の増殖および造卵が活性化されない。

今後の展開

本研究により、餌由来のグルコースは、腸の細胞に吸収されて直接的に作用するわけではなく、フルクトースに変換されることで腸に作用する事例が示されました。今後は、ポリオール経路およびフルクトース受容体に依存した腸内での NPF の分泌メカニズムが生殖以外に及ぼす影響を解明していきます。さらには、餌から摂取する糖を直接利用するのではなく、わざわざフルクトースに変える意義も現時点では不明であり、今後、解明されなければならない課題です。

本研究で注目したポリオール経路は、動物種を問わず進化的に保存された代謝経路です。また、フルクトースを感知する味覚受容体は、ヒトを含む哺乳動物の腸内分泌細胞にも存在することが報告されています。食餌中の糖に反応した腸ホルモンを介したエネルギー代謝の制御は、ヒトの生活習慣病の発症に深く関連しており、将来的に、今回発見したものと同様のメカニズムは、栄養摂取や腸ホルモンと生殖能力との関連性だけでなく、腸ホルモンと糖尿病発症との関連性を、ライフコースを通じて解析する有益なモデルとなり得ます。

さらに、NPF の存在は他の昆虫にも広く見られることから、ポリオール経路やフルクトース受容の攪乱を用いた、農業害虫や衛生害虫の生殖を阻害する新たな技術開発につながる可能性があります。

【題名】 Circulating fructose regulates a germline stem cell increase via gustatory receptor- mediated gut hormone secretion in mated *Drosophila*

(ショウジョウバエにおいて循環フルクトースは、味覚受容体を介した消化管ホルモン分泌を促すことで、交尾後の生殖幹細胞の増加を制御する)

Hoshino Ryo, Sano Hiroko, Yoshinari Yuto, Nishimura Takashi, Niwa Ryusuke

Science Advances, 9(8): eadd5551 (2023)

クライオ電子顕微鏡が切り拓く新しい可能性

これまで見えなかったタンパク質の詳細構造を
可視化できれば、創薬を加速させ、
希少がんの治療に貢献できるかもしれません

タンパク質の構造を解明することは、構造情報を使った薬物設計にとってとても重要です。クライオ電子顕微鏡（クライオ EM）は、大きな生体分子の構造を研究するための従来とは根本的に異なる方法を提供します。

タンパク質の構造については、X線結晶構造解析法を主流として、時に小さな分子に対しては核磁気共鳴（NMR）分光法を用いるなどして研究されてきました。しかし、X線結晶構造解析法では、タンパク質を結晶化させてから研究する必要があり、NMRでは低分子量のタンパク質しか分析できません。

このような構造解析手法の不利な点を克服する新しい構造解析手法として登場したクライオ EM により、従来は解析できなかった生体分子構造を解明・解析することで、研究と医薬品開発に役立てる研究が加速しています。その中でも、筑波大学の構造生物化学者であり、クライオ EM のエキスパートである岩崎憲治は、クライオ EM を主軸とした希少がんの研究に挑んでいます。

クライオ EM は、検出器の開発、画像データ処理の新技术開発を含むソフトウェアアルゴリズムの改良等を主とした数十年にわたる進歩を経て新構造解析法として登場しました。Nature Methods は 2015 年にクライオ EM を「メソッドオブザイヤー」に選出し、2017 年には「溶液中の生体分子の高分解能構造決定のためのクライオ電子顕微鏡法の開発」に対してノーベル化学賞が Jacques Dubochet, Joachim Frank, Richard Henderson の 3 人に授与されました。

そのようなクライオ EM が一役買える創薬ターゲットが、軟部肉腫の一つであり、四肢に発生する「滑膜肉腫」なのです。滑膜肉腫を引き起こす異常なタンパク質は、SS18-SSX と呼ばれる「天然変性タンパク質」です。SS18-SSX は単独では決まった構造をとっていない解析の難しいターゲットのため、従来の技術とクライオ EM の両方を使用してその分析に挑んでいます。

滑膜肉腫の治療に向けた創薬の挑戦

「しかし、SS18-SSX には結合するパートナーがあることはわかっています」と、筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA）の岩崎氏と言います。「私たちはこのパートナータンパク質との複合体を作製し、クライオ EM を使用してその構造を解明することに成功しました。」この成果は、岩崎氏が 5 年以上かかると想定している医薬品開発への道の重要な一歩となりました。

「私がこのがん研究に携わるようになったのは、妻が滑膜肉腫と診断された後です」と岩崎氏は説明する。「当時大阪大学大学院医学系研究科の教員であり主治医であった竹中聡先生に共同研究をお願いしました。竹中先生から滑膜肉腫ドライバー遺伝子を受け取り、筑波大学に持ち帰り、研究を始めました」

今後の課題は、滑膜肉腫発生のメカニズムをさらに探求しつつ、候補化合物をスクリーニングし、最終的には薬剤を開発することです。これには、学内ではコンピュータシミュレーションの専門家である広川貴次先生、病態医化学の高橋智先生との共同研究、学外では、東京大学胡桃坂仁志先生と大阪国際がんセンター竹中聡先生との共同研究が要となっています。

同様に天然変性タンパク質によって引き起こされるたくさんのがんがありますが、クライオ EM はこれらの疾患治療方法開発にも希望をもたらしてくれるかもしれません。「構造生物化学者が通常挑むのに難しいターゲットについて研究を続けていきます」と岩崎氏は言います。



構造生物化学者の岩崎憲治氏は、より良いがん治療法を見つけるために、クライオ EM を使用してタンパク質の構造を解析しています。

※2023年3月9日Nature Index 2023 Japanに掲載された広告記事より抜粋(日本語翻訳・文責:筑波大学)

学会賞等受賞報告

柳沢研究室

- ・木村健一助教が、2022年12月に第6回日本循環器学会 基礎研究フォーラム(BCVR)にて The Excellent Abstract Award を受賞しました。

岩崎研究室

- ・渋谷綾音氏(化学類 4年)が、2023年3月に薬学会 学生優秀発表賞を受賞しました。
- ・高橋花南氏(化学学位プログラム博士前期課程2年)が、2023年3月に2022年度 数理物質科学研究群長賞を受賞しました。

丹羽研究室

- ・岡本 直樹助教が、2023年2月に2022年度 BEST FACULTY MEMBER を受賞(写真)しました。
- ・渡邊 瑛氏(生物学学位プログラム博士前期課程2年)が、2023年3月に2022年度つくばスカラシップ、2022年度茗溪会賞及び2022年度 学位プログラムリーダー表彰を受賞(写真)しました。

野村研究室

- ・2023年3月に第96回日本細菌学会総会にて、尾花 望助教が黒屋奨学賞を、福田良亮氏(生物資源科学学位プログラム 博士前期課程1年)、鶴木海緒氏(同)が 優秀発表賞を受賞(写真)しました。



岡本 直樹助教



渡邊 瑛氏



野村研究室

令和5年度TARAプロジェクト共同研究プロジェクトについて

生存ダイナミクス研究センターでは、当センターを拠点とする共同研究体制をさらに充実させる為、新たなTARAプロジェクト「公募型研究プロジェクト」を2018年度より開始しております。2023年度(令和5年度)は、筑波大学以外の機関に所属する研究者を対象とし、共同研究テーマの公募を行い、11件の研究課題が採択されました。

TARA NEWSLETTER No.10

【発行者】 筑波大学生存ダイナミクス研究センター

【連絡先】 〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1
TEL.029-853-6082 FAX.029-853-6074
E-mail : tara@tara.tsukuba.ac.jp

<https://www1.tara.tsukuba.ac.jp>

2023年4月発行