

3. プレスリリース

2023 年 5 月 22 日 丹羽プロジェクト

昆虫が冬季に卵を作らないようにする神経の機能を解明

2023 年 6 月 1 日 岩崎プロジェクト

パーキンソン病における α シヌクレイン新規リン酸化の病態を発見
～パーキンソン病の新しいメカニズムの解明～

2023 年 9 月 1 日 深水プロジェクト

解糖系酵素エノラーゼの新たな翻訳後修飾を発見

2023 年 9 月 11 日 深水プロジェクト

ヒストンタンパク質の新たな翻訳後修飾としてヒスチジンメチル化を発見

2023 年 9 月 28 日 丹羽プロジェクト

真菌の二次代謝物に新たな殺虫作用
環境に優しい昆虫制御型農薬に役立つ期待

2023 年 11 月 10 日 澁谷プロジェクト

ナチュラルキラー細胞のウイルス感染への免疫記憶を制御する分子を発見

昆虫が冬季に卵を作らないようにする神経の機能を解明

一部の昆虫で見られる、冬季などの生殖に適さない季節に生殖器官を著しく縮退させる「生殖休眠」を制御する神経ペプチド（神経伝達物質）を発見しました。このような仕組みの存在は、50 年以上前から知られていましたが、今回初めて、その具体的な制御メカニズムが明らかになりました。

多くの生物にとって休眠は、生存に不利な環境下でのエネルギー消費を減らすため、発生や生殖を一定期間抑制する生存戦略です。一部の昆虫では、生殖に適さない季節に生殖器官の発達を抑制する生殖休眠が見られます。生殖休眠は、昆虫ホルモンの一つである幼若ホルモンの量が低下することによって引き起こされます。このような生殖休眠の制御には、脳から幼若ホルモン産生器官（アラタ体）に投射する神経が関与することが 50 年以上前から明らかになっていたものの、どのような神経分泌因子により幼若ホルモン量が制御されるのかは未解明なままでした。

本研究では、キイロショウジョウバエを用いた解析により、神経ペプチド Diuretic hormone 31（DH31）が生殖休眠を制御していることを初めて明らかにしました。また、脳からアラタ体に投射（作用）する神経が DH31 を産生しており、この神経から分泌される DH31 が生殖休眠に重要であることを見いだしました。さらに、アラタ体では DH31 の受容体が発現しており、DH31 を受け取ることで幼若ホルモン量が抑制され、生殖休眠が引き起こされることが判明しました。

さまざまな昆虫で、アラタ体に投射する神経が生殖休眠を制御していることが明らかになっていること、DH31 が保存されていることを踏まえると、DH31 による生殖休眠制御は、幅広い昆虫種で保存されている可能性があります。昆虫の休眠制御メカニズムを知ることは、農業害虫や衛生害虫の新たな防除技術開発に資することが期待されます。

研究代表者

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター

丹羽 隆介 教授

研究の背景

多くの生物にとって休眠は、生存に不利な環境下でエネルギー消費を減らすため、発生や生殖を一定期間抑制する生存戦略です。一部の昆虫では、生殖に適さない季節に、卵巣などの生殖器官の発達を抑制する生殖休眠が見られます。この生殖休眠の制御において中心的な役割を果たすホルモンが、アラタ体^{注1)}と呼ばれる内分泌器官で生合成される幼若ホルモン^{注2)}です。幼若ホルモンは、非休眠条件下では卵黄タンパク質^{注3)}の発現と蓄積を誘導することで卵巣発達を促進します。一方で、低温、飢餓、あるいは短日条件^{注4)}といった休眠を誘導する条件にさらされた個体では、幼若ホルモン量が低下し、卵巣発達が抑制されて、生殖休眠が引き起こされます。アラタ体は脳に近接していることから、さまざまな昆虫において、アラタ体に直接投射（作用）して休眠を制御する神経の存在が、50年以上前から知られていました。しかしながら、アラタ体投射神経がどの神経分泌因子を産生するのか、また脳内でどのような神経回路を構成するかは未解明でした。

研究内容と成果

本研究では、冬季に生殖休眠を行うことが知られているキイロショウジョウバエのメスを用いて、アラタ体投射神経による生殖休眠（幼若ホルモン量の制御）メカニズムの解明を目指しました。このために、神経ペプチド（神経伝達物質）に対する免疫組織化学染色^{注5)}を行い、アラタ体に投射する神経を探索したところ、3対のアラタ体投射神経が神経ペプチドの一つである Diuretic hormone 31 (DH31)^{注6)}を産生していることが明らかになりました（図 A）。この神経の形態は、キイロショウジョウバエ以外の昆虫で生殖休眠を制御することが明らかになっていた神経と類似していました。また、この神経は、先行研究で知られていた生殖休眠を制御する神経とシナプスを形成していることも明らかになりました。

そこで、DH31 を機能阻害した個体を休眠条件下で飼育すると、卵巣の発達が見られ、DH31 は生殖休眠をまさに制御していることが明らかになりました。さらに、アラタ体投射神経でのみ DH31 を機能阻害した際も、同様に卵巣の発達が見られました。このことは、アラタ体投射神経から分泌される DH31 が生殖休眠を引き起こすために重要であることを意味します。次に、DH31 がアラタ体投射神経で分泌されていることを踏まえ、DH31 受容体 (DH31-R) がアラタ体で発現するのか確認しました。すると、アラタ体では DH31-R が発現しており、アラタ体において DH31-R の機能阻害を行うと、休眠条件下にもかかわらず卵巣の発達が見られました。また、DH31-R の機能阻害を行った個体では、卵黄タンパク質の発現量も大きく上昇していました。さらに、アラタ体が DH31 を受容すると、細胞内のサイクリック AMP (cAMP)^{注7)}量が上昇することも明らかになりました。すなわち、アラタ体投射神経から分泌される DH31 がアラタ体で受け取られ、cAMP の上昇を介して生殖休眠が引き起こされると考えられます。加えて、DH31 および DH31-R の幼若ホルモン量調節における機能を確認しました。DH31 および DH31-R の機能阻害を行うと、幼若ホルモン量の上昇が確認されたことから、DH31 は DH31-R に受容され、幼若ホルモン量を抑制していることが明らかになりました（図 B）。

これまで、アラタ体投射神経から分泌される幼若ホルモン量を制御する神経分泌因子の報告はありませんでした。本研究は、アラタ体投射神経が DH31 を介して幼若ホルモン量を抑制することで生殖休眠を制御することを示す初めての研究です。

今後の展開

本研究により、アラタ体投射神経は DH31 を分泌し、幼若ホルモン量を抑制することで生殖休眠を制御することが明らかになりました。今後、アラタ体投射神経の制御機構も含めた、生殖休眠を制御する神経内分泌メカニズムの全容解明を目指します。

さまざまな昆虫において、脳からアラタ体へ直接投射する神経が生殖休眠を制御すること、DH31 が保存されていることを踏まえると、アラタ体投射神経由来の DH31 を介した生殖休眠制御メカニズムは、幅広い昆虫種で保存されていると考えられます。また、DH31 による休眠制御をかく乱することができれば、農業害虫や衛生害虫の新たな防除技術開発につながる可能性があります。

参考図

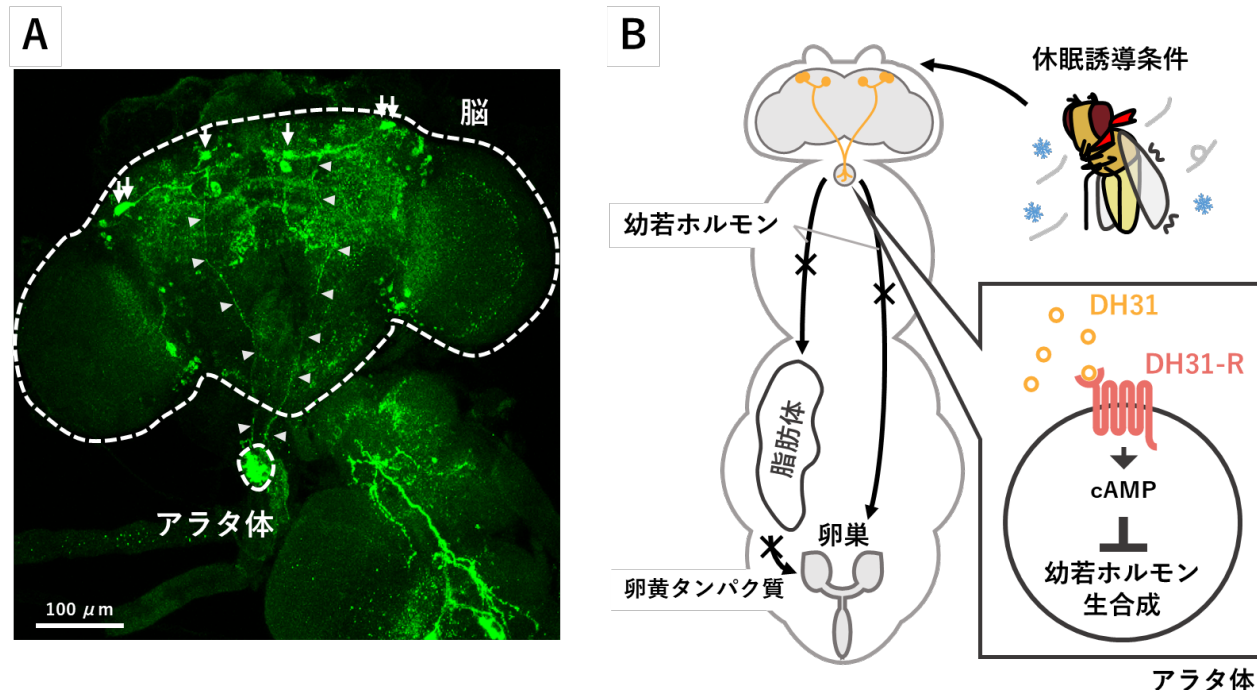


図 (A) 脳とアラタ体をつなげたまま取り出し、DH31 の免疫組織化学染色を行った結果。アラタ体のシグナルをたどると、3 対のアラタ体投射神経が見られた。矢印はアラタ体投射神経の細胞体、矢じりは DH31 神経の軸索を示す。これらの神経が DH31 を産生し、アラタ体に投射している。(B) キイロショウジョウバエのメスを、休眠誘導条件下で飼育すると、アラタ体投射神経から DH31 が分泌される。DH31 はアラタ体の受容体 DH31-R で受け取られ、細胞内の cAMP 量の上昇を介して、幼若ホルモン合成を抑制する。体内の幼若ホルモン量が低下すると、脂肪体における卵黄タンパク質の産生と、卵巣における卵黄タンパク質の蓄積が抑制される。結果として、卵巣発達が抑制され、生殖休眠が引き起こされる。

用語解説

注 1) アラタ体

昆虫の脳近傍に位置する内分泌器官。幼若ホルモンの合成及び放出を行う。

注 2) 幼若ホルモン

昆虫を含む節足動物に存在する疎水性ホルモン。幼虫期には、脱皮や変態の制御を担うが、成虫期には卵巣発達や睡眠の制御を行う。

注 3) 卵黄タンパク質

将来、卵子となる卵母細胞において、受精後の発生に必要な養分となるタンパク質。

注 4) 短日条件

一日のうち、光の当たる時間が短く、光の当たらない時間が長い光周期条件。短日条件は、温帯や寒帯において秋から冬にかけての気温低下とともに訪れ、生物の生育や発育に大きな影響を与える。

注5) 免疫組織化学染色

組織中に存在する特定のタンパク質を検出するために、そのタンパク質に特異的な抗体を用いて染色する方法。これにより、目的のタンパク質が存在する位置を明らかにすることができる。

注6) Diuretic hormone31 (DH31)

無脊椎動物の神経分泌因子として同定された神経ペプチド。さまざまな昆虫において、利尿作用があることが知られている。またキイロショウジョウバエでは、脳や腸で産生され、睡眠や摂食行動なども制御する。DH31は進化的に保存された神経ペプチドと考えられている。

注7) サイクリック AMP (cAMP)

細胞内に情報を伝達するために用いられる物質の一つ。細胞膜上の受容体からの刺激によって生成され、細胞でさまざまなタンパク質と結合することにより、多様な生理的応答を媒介する。

研究資金

本研究は、日本学術振興会・科学研究費助成事業(26250001、17H01378、17J00218、21J20365)、文部科学省・科学研究費助成事業・新学術領域研究「配偶子インテグリティの構築」公募研究(21H00226)、科学技術振興機構・次世代研究者挑戦的研究プログラム(JPMJSP2124)、チェコ共和国科学財団(22-21244S)、アメリカ国立衛生研究所・アレルギー感染症研究所(R21AI167849、R21AI153689)からの支援に基づく研究の一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Female reproductive dormancy in *Drosophila* is regulated by DH31-producing neurons projecting into the corpus allatum.

(キイロショウジョウバエメスの生殖休眠はアラタ体に投射する DH31 産生神経によって制御される)

【著者名】 Yoshitomo Kurogi (黒木 祥友 筑波大学大学院理工情報生命学術院生命地球科学研究群・日本学術振興会特別研究員 DC1), Eisuke Imura (井村 英輔 筑波大学大学院生命環境科学研究科・日本学術振興会特別研究員 DC1 (当時)), Yosuke Mizuno (水野 陽介 筑波大学大学院理工情報生命学術院生命地球科学研究群), Ryo Hoshino (星野 涼 筑波大学大学院理工情報生命学術院生命地球科学研究群・日本学術振興会特別研究員 DC1), Marcela Nouzova (Department of Biological Sciences, Florida International University・Research professor), Shigeru Matsuyama (松山 茂 筑波大学生命環境系・講師), Akira Mizoguchi (溝口 明 愛知学院大学教養部・客員教授), Shu Kondo (近藤 周 東京理科大学先進工学部・准教授), Hiromu Tanimoto (谷本 拓 東北大学大学院生命環境科学研究科・教授), Fernando G. Noriega (Department of Biological Sciences, Florida International University・Professor), and Ryusuke Niwa (丹羽 隆介 筑波大学生存ダイナミクス研究センター・教授)

【掲載誌】 *Development*

【掲載日】 2023 年 5 月 23 日

【DOI】 10.1242/dev.201186

問合わせ先

【研究に関すること】

丹羽 隆介（にわ りゅうすけ）

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 教授

URL: <https://www1.tara.tsukuba.ac.jp/projects/niwa/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

2023年6月1日

報道機関 各位

新潟大学
科学技術振興機構
筑波大学
永生病院

パーキンソン病における α シヌクレイン新規リン酸化の病態を発見 ー パーキンソン病の新しいメカニズムの解明 ー

新潟大学脳研究所脳病態解析分野の松井秀彰教授、京都大学医学研究科医学研究支援センターの伊藤慎二講師、筑波大学生存ダイナミクス研究センターの岩崎憲治教授、関西医科大学の廣瀬末果研究員（研究当時：大阪大学蛋白質研究所特任研究員）、永生病院脳神経内科パーキンソン病センターの久保紳一郎博士らの研究プロジェクトは、パーキンソン病（注 1）における α シヌクレイン（注 2）の神経毒性に関係すると考えられる T64 リン酸化（注 3）の存在を明らかにしました。

これまでパーキンソン病において、 α シヌクレインが重要な分子の 1 つであることは想定されていましたが、 α シヌクレインがどのようにしてパーキンソン病の病態に関わるかは不明な点が多くありました。本研究では、加齢とともにパーキンソン病に類似した病理を呈する魚＝アフリカメダカの脳およびヒト剖検脳における α シヌクレインの翻訳後修飾（注 4）を解析することで、 α シヌクレイン T64 リン酸化がパーキンソン病において増加することを見出しました。さらに α シヌクレイン T64 リン酸化が異常な形態の複合体を形成すること、ミトコンドリア機能障害（注 5）や細胞毒性を発揮することなどを明らかにしました。以上の発見はパーキンソン病の病態解明とその治療開発に役立つことが期待されます。

本研究成果は、2023 年 5 月 30 日、米国科学アカデミー紀要「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」に掲載されました。

【本研究成果のポイント】

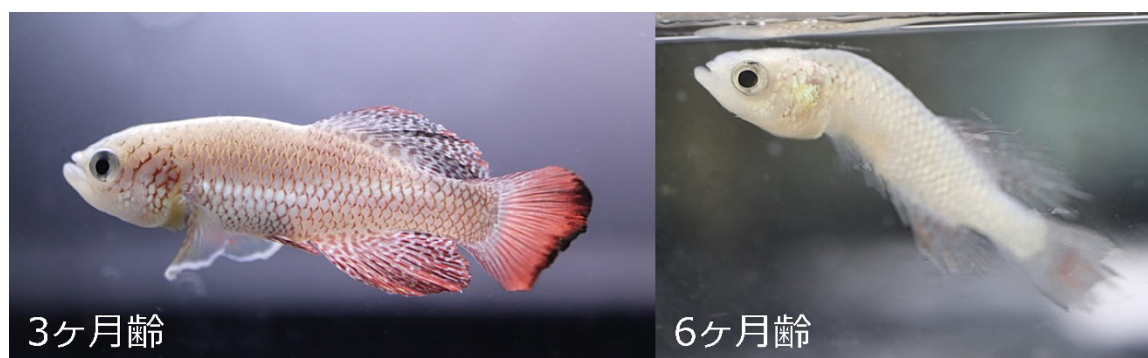
- 小型魚類とヒト試料を用いて α シヌクレインの新規リン酸化を見出した。
- α シヌクレイン T64 リン酸化がパーキンソン病において増加する。
- α シヌクレイン T64 リン酸化は異常な形態の複合体を形成し細胞毒性を発揮する。

I. 研究の背景

パーキンソン病は手足のふるえ、動きの鈍さ、転倒しやすさなどを主症状とする神経疾患です。 α シヌクレインはレビー小体と言われる細胞内の凝集物の主な構成物質であり、 α シヌクレインおよびレビー小体の蓄積はパーキンソン病の主な病理的特徴です。これまでの研究で、パーキンソン病の病態における α シヌクレインの重要性が指摘されています。しかし、 α シヌクレインがパーキンソン病において毒性を発揮する分子的なメカニズムは、未だ十分には解明されていませんでした。

II. 研究の概要

本研究では、まずは松井秀彰教授らが 2019 年に報告した、加齢とともにパーキンソン病の病態を呈するアフリカメダカ（図 1）の α シヌクレインに対する修飾に注目しました。その結果、アフリカメダカの α シヌクレインがいくつかの新規部位において、加齢あるいはパーキンソン病に伴いリン酸化されることがわかりました。



アフリカメダカ（学名: *Nothobranchius furzeri*）

図 1: 本研究に利用したアフリカメダカ

わずか 3-5 ヶ月の間に老化し、パーキンソン病を含むさまざまな加齢関連疾患の病態を呈する（松井ら *Cell Rep.* 2019）。

図は松井自身が撮影したもので、一部は松井研究室のホームページ（https://www.bri.niigata-u.ac.jp/~neuroscience_of_disease/）より転載。

次にヒトパーキンソン病脳を解析した結果、特に T64 という部位における α シヌクレインのリン酸化が、パーキンソン病の脳において増加していることが明らかになりました。T64 におけるリン酸化をさらに研究するために、T64D 変異という T64 リン酸化の状態を模すような変異 α シヌクレインを解析したところ、T64D 変異では α シヌクレインの複合体構造に異常をきたすことがわかりました。さらに T64D 変異 α シヌクレイン複合体の構造異常は、家族性パーキンソン病で見られる A53T 変異を持つ α シヌクレイン複合体の構造異常と類似していました。このような T64D あるいは T64E（注 6）といった変異は、培養細胞ではミトコンドリア機能障害・リソソーム障害・細胞死を起こし、脊椎動物のモデル生物としてよく使われているゼブラフィッシュでは神経変性の原因となりました。以上の実験結果はパーキンソン病の病態におけ

る α シヌクレインの T64 部位でのリン酸化の重要性と病原性を示すものでした (図 2)。

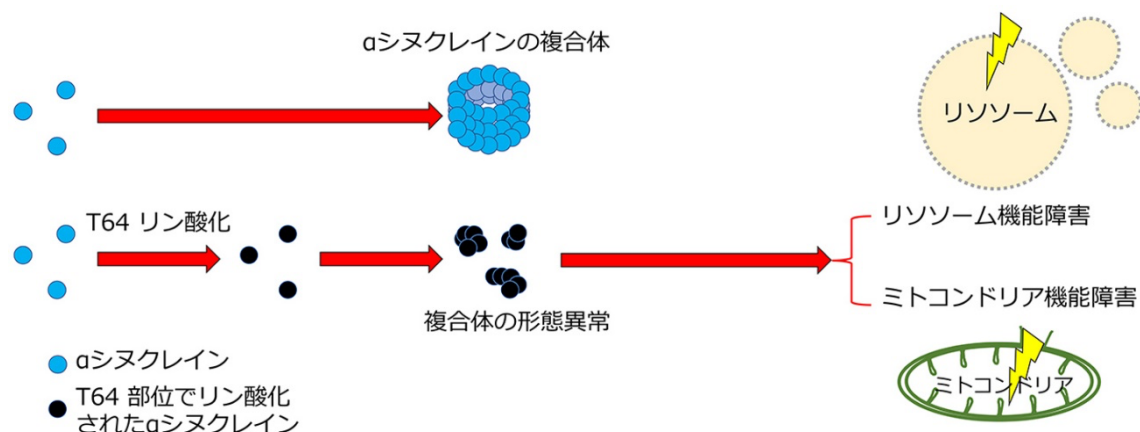


図 2: 本研究の概要

α シヌクレインの T64 リン酸化が異常な複合体の形成につながり、結果リソソーム機能障害やミトコンドリア機能障害、ひいては細胞毒性や神経細胞死につながると考えられる。

III. 研究の成果

本研究プロジェクトは、パーキンソン病モデル動物およびヒトパーキンソン病の脳において、 α シヌクレインの T64 部位のリン酸化が増加することを報告しました。この T64 リン酸化は、 α シヌクレインの特性を変化させ、異常な複合体形成や毒性の獲得につながりました。今回の発見は、 α シヌクレインがパーキンソン病において毒性機能を獲得するための新しい重要なステップを明らかにするものです。

IV. 今後の展開

本研究成果は、神経難病の 1 つであるパーキンソン病の病態解明に貢献するものであり、今後も引き続き解析を続けていきます。そして、パーキンソン病のより詳細な病態解明および治療開発、さらに発症機序の解明と超早期の予測・予防法開発に結び付けたいと考えています。

V. 研究成果の公表

本研究成果は、2023 年 5 月 30 日、米国科学アカデミー紀要「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」に掲載されました。

論文タイトル：Phosphorylation of α -Synuclein at T64 Results in Distinct Oligomers and Exerts Toxicity in models of Parkinson's Disease

著者：Hideaki Matsui, Shinji Ito, Hideki Matsui, Junko Ito, Ramil Gabdulkhaev, Mika Hirose, Tomoyuki Yamanaka, Akihide Koyama, Taisuke Kato, Maiko Tanaka, Norihito Uemura, Noriko Matsui, Sachiko Hirokawa, Maki Yoshihama, Aki Shimozawa, Shin-ichiro Kubo, Kenji Iwasaki, Masato Hasegawa, Ryosuke Takahashi, Keisuke Hirai, Akiyoshi

VI. 謝辞

本研究は、科学技術振興機構ムーンショット型研究開発事業（JPMJMS2024）、文部科学省科学研究費助成事業（JP22484842、JP18955907、JP14516799、JP16690735、JP17925674）、AMED（JP19gm6110028、JP19dm0107154、JP21wm0425019）、武田科学振興財団、住友財団、東京生化学研究会、上原記念生命科学財団、細胞科学研究財団、クラウドファンディング、その他の寄付金などの支援を受けて行われました。

また、本研究は、京都大学医学研究科臨床神経学教授の高橋良輔教授、東京都医学総合研究所の長谷川成人博士、新潟大学脳研究所脳病態解析分野の山中智行准教授、同脳神経内科学分野の小野寺理教授、同病理学分野の柿田明美教授等の協力を得て行いました。

ムーンショットプロジェクトマネージャー 高橋良輔教授のコメント

本研究開発プロジェクトでは臓器連関に着目することで認知症を発症前に予測し、予防可能とすることを目指しています。パーキンソン病およびパーキンソン病関連認知症においてその病態発症メカニズムには α シヌクレインが病因タンパクとして関与していることが知られており、特にその蓄積は病気の発症前、すなわち未病の時期から始まっています。本研究ではこの α シヌクレインが神経毒性を発揮するために重要な要素を新たに見出すことに成功しました。 α シヌクレインは脳だけではなく腸管をはじめとした末梢臓器にも存在し腸脳連関と密接に関係しているため、臓器連関に着目してパーキンソン病の未病期から発症に至る病態予測モデルを構築するためのキーパラメーターとして重要です。このように、本研究における α シヌクレインの修飾・挙動に関する新たな発見は、腸脳連関に基づく疾患予測モデルの構築の基礎となり、ヒトにおけるパーキンソン病関連認知症の発症前予測および予防法につながると考えます。

【用語解説】

（注 1）パーキンソン病：手足のふるえ、動きの鈍さ、転倒のしやすさ、などを症状とする脳神経疾患。L-Dopa などの内服により症状は緩和されることが多いが、病気の詳細なメカニズムは未だわかっていない。

（注 2） α シヌクレイン：神経細胞などに存在するタンパク質。パーキンソン病の脳内に蓄積していること、遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子産物の 1 つであること、などからその病態への重要な関与が想定されている。

（注 3）T64 リン酸化：ここでは α シヌクレインの 64 番目のアミノ酸であるトレオニン（T と略す）に対してリン酸化修飾がおこることを意味する。

（注 4）翻訳後修飾：タンパク質が合成された後、タンパク質へ付加されるさまざまな修飾のことを言う。リン酸化はその修飾様式の 1 つである。

（注 5）ミトコンドリア機能障害：ミトコンドリアは細胞の中に存在する細胞内小器官で、エネルギーの生成などにおいて重要な働きを担っている。ミトコンドリア機能障害はなんらかの原因でミトコンドリアの正常な機能が低下することを意味する。

（注 6）T64D／T64E： α シヌクレインの T64 リン酸化とその構造を似せるために α シヌクレインの 64 番目のアミノ酸である T をアスパラギン酸（D）やグルタミン酸（E）に変化させたもの。

本件に関するお問い合わせ先

【研究に関すること】

新潟大学脳研究所脳病態解析分野

教授 松井秀彰（まついひであき）

TEL：025-227-0646 E-mail：hide0729@bri.niigata-u.ac.jp

筑波大学生存ダイナミクス研究センター

教授 岩崎憲治（いわさきけんじ）

TEL：029-853-6045 E-mail：ikenji@tara.tsukuba.ac.jp

永生病院脳神経内科パーキンソン病センター

センター長 久保紳一郎（くぼしんいちろう）

E-mail：skubo@juntendo.ac.jp

【JST 事業に関すること】

科学技術振興機構ムーンショット型研究開発事業部

犬飼孔（いぬかいこう）

TEL：03-5214-8419 E-mail：moonshot-info@jst.go.jp

【広報担当】

新潟大学広報事務室

TEL：025-262-7000 E-mail：pr-office@adm.niigata-u.ac.jp

筑波大学広報局

TEL：029-853-2040 E-mail：kohositu@un.tsuuba.ac.jp

科学技術振興機構広報課

TEL：03-5214-8404 E-mail：jstkoho@jst.go.jp

医療法人社団永生会広報連携・地域支援事業部

川村ひろ子

E-mail：h-kawamura@eisei.or.jp

解糖系酵素エノラーゼの新たな翻訳後修飾を発見

タンパク質のヒスチジン残基で生じるメチル化修飾の新たな基質として、解糖系酵素エノラーゼのサブユニットである γ -enolase を同定しました。また、このメチル化が生じるヒスチジン残基を特定し、これが γ -enolase の二量体形成や活性発現に重要であることを明らかにしました。

タンパク質は、翻訳（生合成）後の化学修飾により、機能の多様性がもたらされます。その一つであるメチル化修飾は、一般にリジン残基やアルギニン残基に起こるとされていますが、近年、ヒスチジン残基にも起こることが分かってきました。また、ヒスチジンメチル化が広範なタンパク質に生じていることも示唆されています。一方で、生体組織内でどのようなタンパク質が、どのヒスチジン残基でメチル化修飾されるか、その詳細は不明でした。

本研究グループは、マウスの骨格筋および脳組織を用いて、生化学的手法によるタンパク質の分画と分析化学的手法を組み合わせた解析から、ヒスチジン残基がメチル化修飾される新たな基質として、解糖系酵素エノラーゼのサブユニットである γ -enolase を同定しました。また、3種類の異なるアミノ酸配列を持つエノラーゼ（ α 、 β 、 γ ）のうち、脳神経系特異的に発現する γ -enolase の 190 番目のヒスチジン残基がメチル化されることを明らかにしました。

さらに、立体構造予測計算から、 γ -enolase のメチル化を受けるヒスチジン残基が、サブユニット二量体形成時の分子間水素結合に重要である可能性が推測され、その部位での分子間水素結合を阻害した γ -enolase では、二量体形成能および酵素活性が低下することを見いだしました。加えて、これまでに哺乳類で同定されている3種類のヒスチジンメチル化酵素のいずれも、 γ -enolase のメチル化反応を触媒しませんでした。以上のことから、今回同定した γ -enolase は、新たなヒスチジンメチル化酵素を探索するための、独自性の高い研究材料となることが期待されます。

研究代表者

筑波大学生命環境系

加香 孝一郎 講師

筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA）

深水 昭吉 教授

研究の背景

タンパク質は、翻訳（生合成）後にさまざまな化学修飾を受けることが知られています。このような化学的修飾は、「翻訳後修飾^{注1)}」と呼ばれ、タンパク質相互作用や酵素活性、構造の変化などを通してタンパク質の機能に多様性をもたらします。タンパク質のメチル化修飾は、主にリジン残基やアルギニン残基に起こることが知られていましたが、近年、ヒスチジン残基も反応の標的となることが分かってきました。また、最近のタンパク質の網羅的研究により、ヒスチジンメチル化は広範なタンパク質に生じる現象であることが示唆されています。しかしながら、2種類のヒスチジンメチル化（ $N\tau$ -メチル化と $N\pi$ -メチル化）のうち（図1）、 $N\tau$ -メチル化修飾を受けるタンパク質の報告は3種類に限られていました。

研究内容と成果

本研究では、マウス組織を用いて、生体内でメチル化修飾されるタンパク質の新たな同定方法を確立し、解析を行いました（図2）。その結果、4例目となるヒスチジン $N\tau$ -メチル化タンパク質を報告しました。すなわち、マウス脳組織において、解糖系酵素エノラーゼ^{注2)}のサブユニット（酵素やタンパク質などの多量体を形成する単一分子）である γ -enolase の 190 番目のヒスチジン残基で $N\tau$ -メチル化修飾されること、また、この部位でのメチル化修飾が、エノラーゼの3種類のアイソザイム^{注3)}（ α 、 β 、 γ ）のうち、脳神経系で特異的に発現する γ -enolase のみで起こることを明らかにしました。

さらに、立体構造予測計算から、 γ -enolase の 190 番目のヒスチジン残基が、サブユニット二量体形成時の分子間水素結合に重要である可能性を見いだしました（図3）。この部位にアミノ酸変異を導入して、分子間水素結合ができないようにしたところ、 γ -enolase の二量体形成能および酵素活性が低下することを突き止めました。以上の結果は、 γ -enolase の構造変化と活性発現に、メチル化修飾の標的となる 190 番目のヒスチジン残基が重要であることを示しています。

加えて、 γ -enolase は、哺乳類の既知のヒスチジンメチル化酵素（SETD3, METTL18, METTL9）のいずれにもメチル化修飾されなかったことから、マウスの脳組織において、新規ヒスチジンメチル化酵素の存在が示唆されました。

今後の展開

タンパク質のヒスチジン残基のメチル化修飾は、リジン残基とアルギニン残基に続く第3のメチル化修飾として近年注目されています。しかしながら、その酵素化学的解析や生物学的意義の解明に不可欠である触媒酵素やその基質の報告例が、第1・第2のメチル化修飾に比べて非常に少なく、研究の進展を遅らせている大きな要因となっています。本研究による、新たなヒスチジンメチル化基質である γ -enolase の発見は、解糖系におけるヒスチジンメチル化の重要性の理解や、新規ヒスチジンメチル化酵素の探索のための有用な手掛かりとなることが期待されます。

参考図

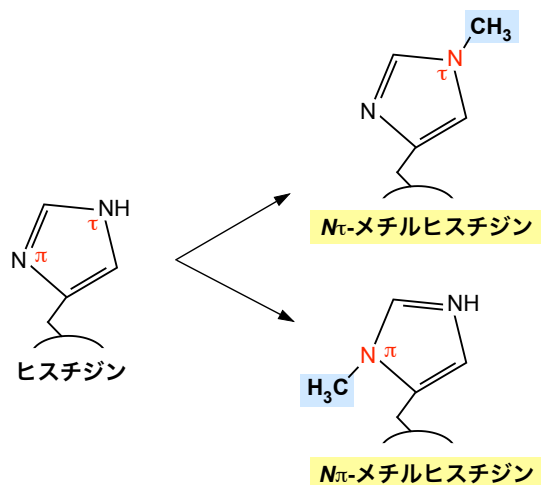


図1：ヒスチジン残基のメチル化修飾

ヒスチジン残基のメチル化修飾は、側鎖イミダゾール環の異なる2つの窒素原子に起こり、主鎖から遠い窒素原子がメチル化された $N\tau$ -メチルヒスチジンと、主鎖に近い窒素原子がメチル化された $N\pi$ -メチルヒスチジンが生成される。

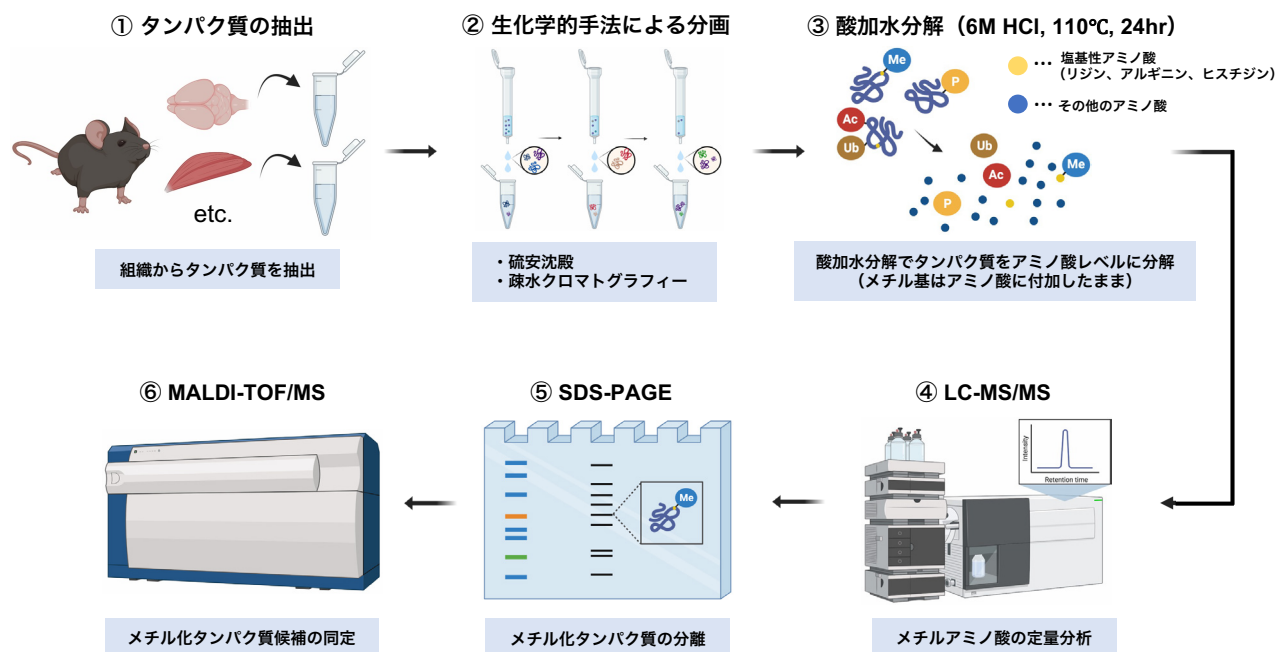


図2：メチル化基質の探索方法の概念図

生化学的手法（硫酸沈殿・疎水クロマトグラフィー）によるタンパク質の分画と、分析化学的手法（LC-MS/MS・MALDI-TOF/MS）を組み合わせることで、メチル化基質を同定する手法を開発した。

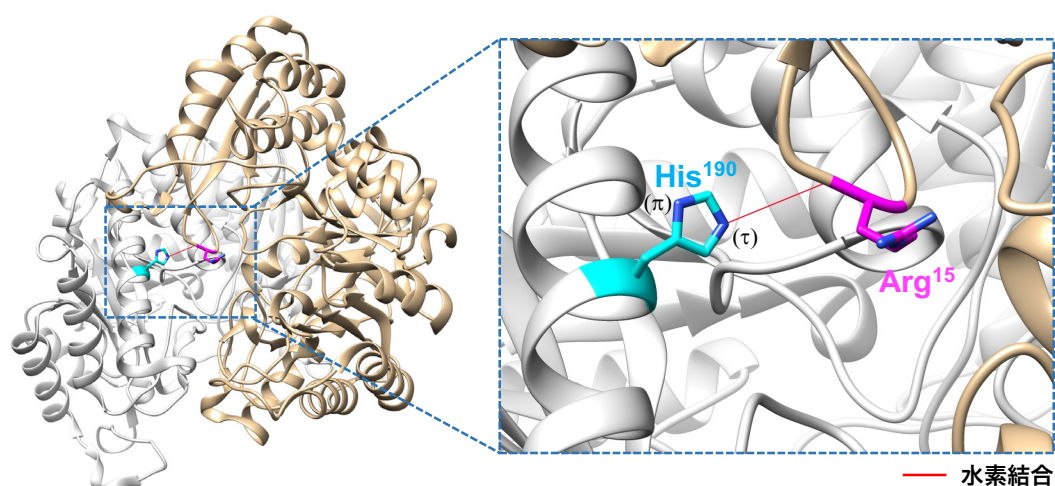


図3： γ -enolase 二量体モデルの立体構造予測計算と分子間水素結合

マウス γ -enolase 二量体モデルの立体構造予測計算から、片方の単量体 γ -enolase (図中：銀色) の 190 番目のヒスチジン残基 *N τ* -位窒素と、もう一方の単量体 γ -enolase (図中：金色) の 15 番目のアルギニン残基カルボニル酸素との間で分子間水素結合が形成されることが推測された。この推測に基づいて、190 番目のヒスチジンを介した分子間水素結合が形成できない変異体 γ -enolase の作製・解析を行い、二量体形成およびエノラーゼ活性の発現にこのヒスチジン残基が重要であることを見いだした。

用語解説

注1) 翻訳後修飾

生合成されたタンパク質に付加されるさまざまな化学修飾のこと。これにより、タンパク質の化学的特性や構造が変化し、多様な機能を持つようになる。リン酸化、アセチル化、メチル化、ユビキチン化などが知られている。

注2) エノラーゼ

エノラーゼは、解糖系において 2-ホスホグリセリン酸をホスホエノールピルビン酸に変換する反応を触媒する。3 種類のアイソザイム (α 、 β 、 γ) が存在し、 α -enolase は全身性に、 β -enolase は骨格筋特異的に、 γ -enolase は脳神経系特異的に発現する。それぞれ、 $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\alpha\beta$ 、 $\alpha\gamma$ の二量体を形成してエノラーゼ活性を発揮する。

注3) アイソザイム

アイソザイムは、酵素としての活性がほとんど同じである一方で、アミノ酸配列が異なり、タンパク質分子として別種である酵素 (またはそのサブユニット) を指す。

研究資金

本研究は、日本学術振興会の科学研究費補助金 (科研費)：(基盤研究 A) (23H00321：深水昭吉)、基盤研究 (B) (20H029947：大徳浩照) および、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の革新的研究開発支援事業 (CREST)「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」研究開発領域の研究開発課題「不可逆的タンパク質メチル化を介した進行性および加齢性心腎障害の分子基盤」(JPgm1410010：深水昭吉) の支援によって実施されました。

掲載論文

【題 名】 γ -enolase (ENO2) is methylated at the $N\tau$ position of His-190 among enolase isozymes.
(エノラーゼアイソザイムの中で、 γ -enolase は His-190 で $N\tau$ メチル化修飾を受ける)

【著者名】 Fumiya Kasai[†], Koichiro Kako[†], Syunsuke Maruhashi, Toru Uetake, Yuan Yao, Hiroaki Daitoku, and Akiyoshi Fukamizu

[†]These two authors contributed equally to this work

【掲載誌】 *The Journal of Biochemistry*

【掲載日】 2023 年 6 月 8 日 (オンライン先行公開)

【DOI】 10.1093/jb/mvad042

問合わせ先

【研究に関すること】

深水 昭吉 (ふかみず あきよし)

筑波大学生存ダイナミクス研究センター (TARA) 教授

TEL: 029-853-6070

Email: akif@tara.tsukuba.ac.jp

URL: http://akif2.tara.tsukuba.ac.jp/Top_iweb/Welcome.html

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

ヒストンタンパク質の新たな翻訳後修飾としてヒスチジンメチル化を発見

生物の設計図であるゲノム DNA は、真核生物では球状タンパク質（ヒストン）に巻き付いて、コンパクトに核内に納められています。ヒストンにはさまざまな翻訳後修飾が起こり、それによって遺伝子の発現が調節されていますが、本研究では、新たにヒスチジン残基のメチル化修飾を発見しました。

真核生物のすべての遺伝情報が記されたゲノム DNA は、非常に長い二重らせんであり、ヒストンと呼ばれる球状のタンパク質に巻きつき幾重にも折りたたまれて、核内に収められています。ヒストンにはさまざまな翻訳後修飾（化学基の付加）が起きますが、中でも、ヒストンを構成するアミノ酸の一つであるリジン残基のメチル化は、ゲノム DNA の折りたたみ具合を調節し、遺伝子の転写を ON/OFF するスイッチとして働きます。

本研究グループは、タンパク質のメチル化修飾の有無や様式を高精度に見分ける独自の技術を駆使し、これまで確認されていなかったヒストンの翻訳後修飾として、ヒスチジン残基のメチル化を見いだしました。ヒストンは、H2A、H2B、H3、H4 という 4 種類のコアヒストンタンパク質が二つずつ集まった 8 量体で構成されますが、このうちヒスチジンメチル化は、ヒストン H2A の 82 番目と H3 の 39 番目のヒスチジン残基に起こることが分かりました。またヒストン H3 のすべてのメチル化状態を調べた結果、メチル化修飾のほとんどはリジン残基に集中していたことから、ヒストンのヒスチジン残基のメチル化は、限られた特定の遺伝子領域に存在するヒストンに起こることが示唆されました。

ヒストンには多くのリジン残基があり、メチル化やアセチル化などの多様な翻訳後修飾が起こります。その組み合わせパターンはヒストンコードと呼ばれ、転写調節を指令する暗号と考えられており、今回のヒスチジン残基のメチル化修飾の発見は、ヒストンコードの解読につながる新たな一歩になると期待されます。

研究代表者

筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA）

大徳 浩照 講師

深水 昭吉 教授

研究の背景

真核生物の核内には、全遺伝情報が書き込まれた長大なゲノム DNA が、極めてコンパクトに収められています。その仕組みはヒストンと呼ばれる球状のタンパク質が担っており、ゲノム DNA は一つのヒストンに 1.7 周分巻き付いたヌクレオソーム構造を基本単位とし、これがさらに幾重にも折りたたまれたクロマチン構造という凝集体を形成しています（図 1 左）。しかし、遺伝情報が読み取られる転写の場面では、その遺伝子周辺のクロマチン構造がいったんほどかれる必要があります。このとき、ヒストンの多様な翻訳後修飾^{注1)}、中でもメチル化が重要な役割を果たしています。これまでの研究から、ヒストンを構成するアミノ酸の一つであるリジン残基のメチル化様式の組み合わせが、転写の ON/OFF を決める暗号（ヒストンコード）であることが明らかになりつつあります。一方、半世紀以上前から、ヒストンのヒスチジン残基にもメチル化修飾の存在が示唆されていましたが、その真偽は不明のままでした。

研究内容と成果

DNA が巻き付くヒストンは、H2A、H2B、H3、H4 とよばれる 4 種類のコアヒストンタンパク質が二つずつ集まった 8 量体で構成されます（図 1 右）。本研究では、初めに、ウシの胸腺から精製したヒストンをアミノ酸レベルまで分解し、これを LC-MS/MS^{注2)} という質量分析装置を用いて分析したところ、ヒストン 8 量体のいずれかのヒスチジン残基がメチル化されていることを見いだしました。次に、その位置を明らかにするため、メチル化が強く検出されたヒストン H2A と H3 を生化学的手法で分離・精製し、これらをタンパク質分解酵素により短いペプチド断片（アミノ酸が複数結合したもの）に切断した後、MALDI-TOF/MS^{注3)} という質量分析装置で解析しました。その結果、H2A では球状部分にある 82 番目のヒスチジン残基、H3 では N 末端側の天然変性領域内（立体構造を取らない部分）にある 39 番目のヒスチジン残基がメチル化されていることを同定しました。またこの 2 か所のメチル化は、ヒトの培養細胞株から精製したヒストンでも同様に見られたことから、哺乳類に共通のヒストン修飾であることが示唆されました。さらに、ヒストン H3 のすべてのメチル化状態を LC-MS/MS を用いて調べたところ、メチル化修飾のほとんどがリジン残基に集中していたことから、少なくとも通常環境下では、ヒストンのヒスチジン残基のメチル化は、特定の限られた遺伝子領域に存在していると考えられました。

今後の展開

ヒストンの翻訳後修飾として、新たにヒスチジンメチル化が見つかったことで、転写調節を指令するヒストンコードにさらなる多様性と複雑性が加わりました（図 2）。特に H3 のヒスチジンメチル化部位の近くに存在する 36 番目のリジン残基のメチル化は、転写活性化の目印として知られており、これらのメチル化部位が互いに干渉し合う可能性を検討する必要があります。また今回の研究から、細胞内にはヒストンのヒスチジンメチル化を担う酵素が存在することが強く示唆されます。現時点では、既知のヒスチジンメチル化酵素によるヒストンのメチル化は検出できないことから、ヒストンを手掛かりとした新たなヒスチジンメチル化酵素の探索にも取り組む予定です。

参考図

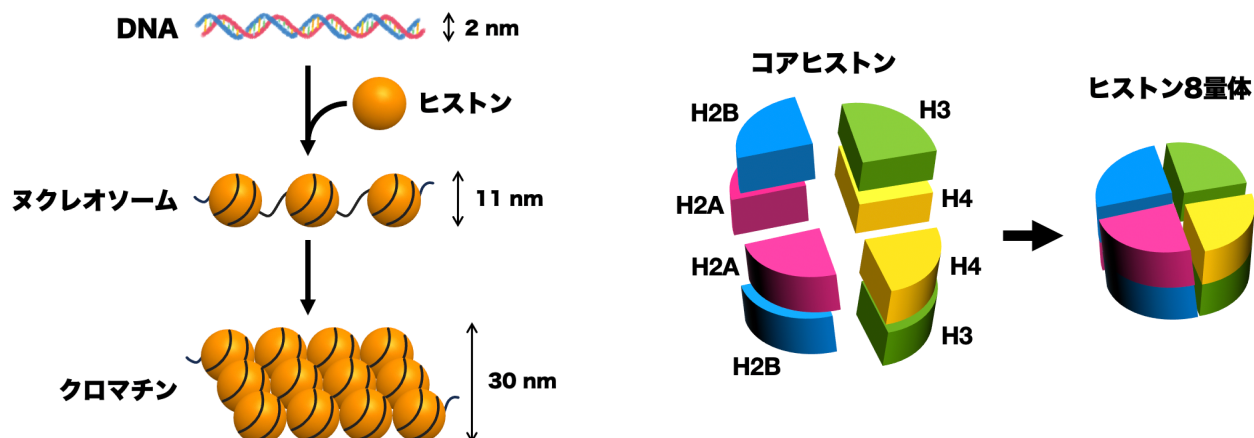


図1 ゲノム DNA はヒストンに巻き付いて凝縮する

真核生物のゲノム DNA は、球状のタンパク質であるヒストンに巻き付いてヌクレオソームという基本単位となり、これがさらに折りたたまれて凝縮し、クロマチンを形成する（左図）。球状のヒストンは、4つのコアヒストンタンパク質 H2A、H2B、H3、H4 が2分子ずつ集まった8量体で構成される（右図）。

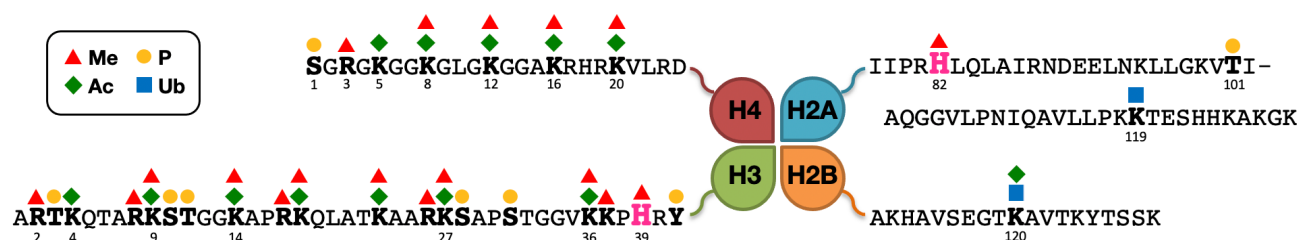


図2 ヒストンは多様な翻訳後修飾を受ける

図中のアルファベットは、コアヒストンを構成する各アミノ酸を表す。メチル化を赤色の△、リン酸化を黄色の○、アセチル化を緑色の◇、ユビキチン化を青色の□で示した。H2A の82番目の H と H3 の39番目の H が、今回発見したメチル化されるヒスチジン残基である。

用語解説

注1) 翻訳後修飾

遺伝子から転写、翻訳された後のタンパク質に、リン酸基やアセチル基、メチル基などの化学修飾、または小さなタンパク質であるユビキチンなどが、酵素によって付加されること。これによりタンパク質の構造や化学的性質が変化し、その機能に多様性が生まれる。

注2) LC-MS/MS

分離能力に優れた液体クロマトグラフ（LC）と定性能力に優れた質量分析計（MS）を組み合わせた装置で、本研究では、タンパク質の分解物に含まれるメチルアミノ酸の同定および定量に用いた。

注3) MALDI-TOF/MS

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析計。タンパク質の配列決定や翻訳後修飾の種類や部位の同定が可能であり、本研究では、ヒストン H2A と H3 のヒスチジンメチル化部位の同定に用いた。

研究資金

本研究は、JST の次世代研究者挑戦的研究プログラム（JPMJSP2124：林岳宏）、日本学術振興会の科学研究費補助金（科研費）：基盤研究（B）（20H029947：大徳浩照）、基盤研究 A（23H00321：深水昭吉）および、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の革新的研究開発支援事業（CREST）「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」研究開発領域の研究開発課題「不可逆的タンパク質メチル化を介した進行性および加齢性心腎障害の分子基盤」（JPgm1410010：深水昭吉）の支援によって実施されました。

掲載論文

【題 名】 Histidine $N\epsilon$ -methylation identified as a new post-translational modification in histone H2A at His-82 and H3 at His-39.

（新たなヒストンの翻訳後修飾としてヒストン H2A の His-82 とヒストン H3 の His-39 のヒスチジン $N\epsilon$ メチル化修飾を同定）

【著者名】 Takahiro Hayashi, Hiroaki Daitoku, Toru Uetake, Koichiro Kako, and Akiyoshi Fukamizu

【掲載誌】 *The Journal of Biological Chemistry*

【掲載日】 2023 年 8 月 4 日

【DOI】 10.1016/j.jbc.2023.105131

問合わせ先

【研究に関すること】

深水 昭吉（ふかみず あきよし）

筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA） 教授

URL: [https:// akif2.tara.tsukuba.ac.jp/Top_iweb/Welcome.html](https://akif2.tara.tsukuba.ac.jp/Top_iweb/Welcome.html)

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp

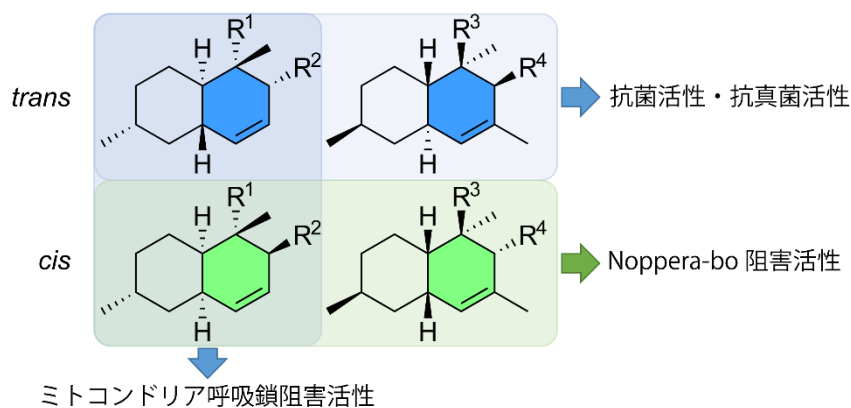
2023 年 9 月 28 日配信 << 配信枚数 3 枚 >>

真菌の二次代謝物に新たな殺虫作用 環境に優しい昆虫制御型農薬に役立つ期待

摂南大学（学長：荻田喜代一）農学部応用生物科学学科の加藤直樹准教授と筑波大学生存ダイナミクス研究センターの丹羽隆介教授、東京薬科大学生命科学部分子生命科学学科の藤川雄太准教授、近畿大学農学部応用生命化学学科の松田一彦教授、理化学研究所の長田裕之ユニットリーダー、高橋俊二ユニットリーダーらの共同研究グループは、真菌（カビ）の生産する二次代謝物に昆虫の発育に必須な酵素を阻害する活性があることを発見しました。環境に優しい昆虫制御型の農薬開発に役立つことが期待できます。

【本件のポイント】

- 真菌の二次代謝物に昆虫の発育に必須な酵素を阻害する活性を発見
- 昆虫制御型の農薬開発に役立つことが期待される



デカリン含有テトラミン酸化合物の立体配置と生物活性の相関

真菌の生産するデカリン^{※1}含有テトラミン酸化合物群は、テトラミン酸部位やデカリン骨格の置換基に加え、デカリンの立体配置により産み出される構造多様性を有しています。本化合物群は多様な生物活性^{※2}が報告されているものの、デカリンの立体配置に関する構造活性相関^{※3}研究は、その収集や合成の困難さから、これまでほとんどなされていません。

研究グループは、デカリン合成酵素遺伝子等を欠失・改変した遺伝子改変糸状菌を利用し、本来の生合成産物とはデカリンの立体配置が異なった誘導体の取得に成功しています。本研究では、これらの収集したデカリン化合物を用いて、生物活性とデカリンの立体配置との相関について検討しました。がん細胞に対する増殖阻害活性、抗菌活性、抗真菌活性、抗マラリア活性、ならびにミトコンドリア呼吸鎖阻害活性について評価を行ったところ、デカリンの立体配置が変化することで、生物活性の強弱が変化することが分かりました。

次に、デカリンの立体配置が異なるこれらの化合物群は、既知の生物活性の評価だけではなく、これまで検証されていなかった生物活性を探すのにも役立つのではないかと考え、本化合物群で報告のない昆虫酵素に対する阻害活性を検討することにしました。デカリン骨格とエクジステロイドの構造類似性から、エクジステロイド生合成に関わるグルタチオンS-転移酵素 Noppera-bo (Nobo)^{※4}に対する阻害活性に着目し、その結果、*cis*-デカリン誘導体に

阻害活性があることを見出しました。

農業害虫の駆除には化学合成された殺虫剤が広く用いられていますが、耐性を持つ昆虫の発生が近年問題となっています。昆虫の発育を阻害し、害虫だけに作用する新しいタイプの農薬に注目が集まっており、今回発見した化合物の阻害活性は、既知の Nobo 阻害剤よりも強くないものの、阻害剤としては新規骨格であり、今後、Nobo と *cis*-デカリン化合物との共結晶構造解析を行うことで、より強力な阻害活性物質の創製が期待できます。

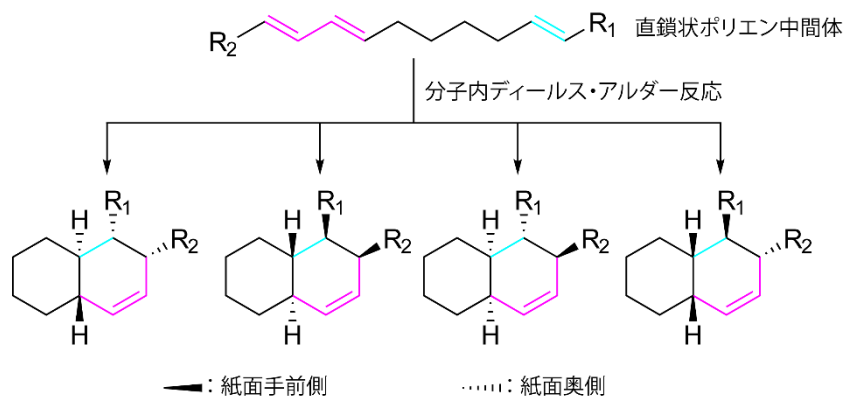
本研究は米科学誌「PLOS ONE」に8月31日に公開されました。

URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290851>

用語説明：

※1 デカリン

炭素10個から構成される二環性の構造を指す（別名、デカヒドロナフタレン、またはオクタリン）。真菌の生産するデカリン化合物は、共通する直鎖状ポリエン中間体から分子内ディールス・アルダー反応を介して形成され、デカリンの立体配置に基づき、4種類に分類できる（補足図1）。



補足図1 分子内ディールス・アルダー反応により形成する4種類のデカリンの立体配置

※2 生物活性

化学物質が生体の特定の機能に対して示す有益、または有害な作用のことで、生理活性とも言う。生物活性を持つ化学物質を生物活性物質と呼び、医薬品や農薬としても利用される。真菌の生産する二次代謝物には、抗生物質ペニシリンや高脂血症治療薬ロバスタチンなど、医薬・農薬として利用されているものが多くある。

※3 構造活性相関

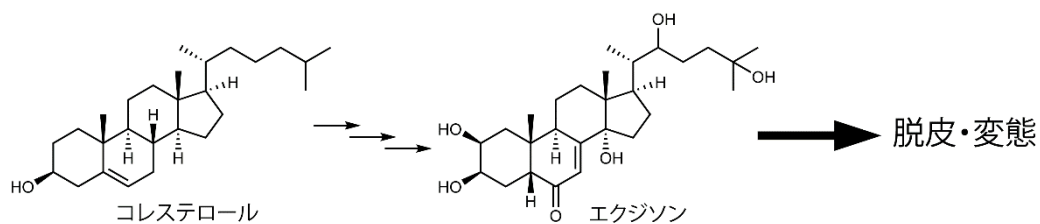
化学物質の構造と生物活性との間の関係のこと。特定の部分構造の有無で生物活性がどのように変化するかを調べることで、その生物活性に重要な構造を知ることができ、生物活性の強度や性質の向上につながる化学修飾や誘導体化が可能となる。

※4 Noppera-bo (Nobo)

ハエ目昆虫とチョウ目昆虫で必須の役割を果たすエクジステロイド生合成酵素の一つ（補足図2）。グルタチオンS-転移酵素と呼ばれる一群のタンパク質ファミリーに属する。

Noppera-bo の名前は、このタンパク質の機能が失われたショウジョウバエでは、本来、胚

で発達すべき表皮構造が形成されず、「ツルツル」の見た目になることに由来する。



補足図2 Noppera-bo はコレステロールからのエクジソン生合成に関与する酵素であり、昆虫の脱皮や変態に不可欠。

論文情報

論文名 "cis-Decalin-containing tetramic acids as inhibitors of insect steroidogenic glutathione S-transferase Noppera-bo"(和訳: *cis*-デカリン含有テトラミン酸は昆虫エクジステロイド生合成に関わるグルタチオン S-転移酵素 Noppera-bo を阻害する)

著者名 加藤直樹 1,2、海老原佳奈 3、野川俊彦 1、二村友史 1、稲葉和恵 3、岡野亜紀子 1、青野晴美 1、藤川雄太 4、井上英史 4、松田一彦 5、長田裕之 1、丹羽隆介 6、高橋俊二 1

- 1 理化学研究所環境資源科学研究センター
- 2 摂南大学農学部
- 3 筑波大学大学院理工情報生命学術院生命地球科学研究群生物学学位プログラム
- 4 東京薬科大学生命科学部
- 5 近畿大学農学部
- 6 筑波大学生存ダイナミクス研究センター

雑誌名 PLOS ONE

DOI 10.1371/journal.pone.0290851

公表日 2023年8月31日（オンライン公開）

■内容に関するお問い合わせ先

摂南大学 農学部応用生物科学科 准教授 加藤直樹
TEL:072-896-5463（不在の場合は学校法人常翔学園広報室へ）

■本件発信部署・取材のお申し込み先

- ・学校法人常翔学園 広報室（担当：石村、上田）
TEL:06-6954-4026 Koho@josho.ac.jp
- ・筑波大学 広報局
TEL:029-853-2040 kohositu@un.tsukuba.ac.jp
- ・東京薬科大学 総務部 広報課
TEL:042-676-6711（8:45～17:00 月～金、祝日は除く） kouhouka@toyaku.ac.jp
- ・学校法人近畿大学奈良キャンパス学生センター（担当：本藤、松本）
TEL:0742-43-1639 FAX:0742-43-5161 nou_koho@ml.kindai.ac.jp

2023 年 11 月 10 日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

ナチュラルキラー細胞のウイルス感染への免疫記憶を制御する分子を発見

ウイルス感染細胞を殺す重要な免疫細胞の一つであるナチュラルキラー（NK）細胞について、その細胞質内に存在する Themis2 という分子が、ウイルス抗原を記憶し、より強力な殺傷能力を持つ免疫記憶 NK 細胞への分化と、その機能を制御していることを発見しました。

人類の歴史において、ウイルス感染症は、ヒトの生命を脅かす最も重大な病気の一つであり続いています。ナチュラルキラー（NK）細胞は、ウイルス感染細胞を殺す役割を持つ免疫細胞ですが、体内に一度侵入したウイルスを記憶して長い間体の中で生存し、ウイルスが再度侵入した際に強力に殺傷できる免疫記憶 NK 細胞に分化することはできないと、これまで考えられてきました。最近、この定説に反して、NK 細胞にもウイルス抗原を記憶する能力があり、より強力な殺傷能力を持つ免疫記憶 NK 細胞に分化することが分かってきました。しかし、そのメカニズムについては、まだ十分に解明されていませんでした。

本研究では、NK 細胞の細胞質内に存在する Themis2 という分子が、免疫記憶 NK 細胞への分化とその機能を制御することを発見しました。Themis2 を欠損した NK 細胞は、野生型 NK 細胞に比べて、サイトメガロウイルス感染後に免疫記憶 NK 細胞により効率良く分化でき、また、Themis2 を欠損した免疫記憶 NK 細胞は、サイトメガロウイルス感染細胞をより強力に殺すことも分かりました。

本研究により、Themis2 を標的として免疫記憶 NK 細胞の分化や機能を強化することによる、新しいウイルス感染症治療薬を開発できる可能性が示されました。

研究代表者

筑波大学医学医療系

澁谷 彰 教授

筑波大学生存ダイナミクス研究センター

鍋倉 宰 助教

研究の背景

高等動物であるヒトは、病原微生物に対する生体防御機構として、極めて精緻に統合された免疫システムを築き上げてきました。ヒトの進化と生存は感染症との戦いにおける勝利の歴史であったとも言えます。しかしながら、感染症は現代にいたってもなお、人類にとっての最大の脅威であり、ウイルス感染症に対する革新的な予防法や治療法の開発が求められています。

ナチュラルキラー（NK）細胞は、がん細胞やウイルス感染細胞を殺し（細胞傷害活性）、がんやウイルス感染を制御する免疫細胞です。しかし、抗体産生細胞^{注1)}のように、体内に一度侵入したウイルスを記憶し、体の中で長期間生存し、ウイルスが再度侵入した際に、強力に殺傷する能力のある免疫記憶細胞に分化することはできないと、これまで考えられてきました。最近、この定説に反して、NK細胞にもウイルス抗原を記憶する能力があり、より強力な殺傷能力を持つ免疫記憶NK細胞に分化することが分かってきましたが、そのメカニズムについては、まだ十分には解明されていませんでした。

研究内容と成果

まず、サイトメガロウイルス^{注2)}感染のマウスモデルを用い、NK細胞が免疫記憶NK細胞に分化する時に増加する分子を、網羅的遺伝子発現解析によって探索し、Themis2という分子を発見しました。野生型およびThemis2遺伝子欠損マウスにおける、NK細胞の免疫記憶NK細胞への分化を比較したところ、サイトメガロウイルス感染後、Themis2を欠損するNK細胞は、野生型NK細胞よりも効率良く免疫記憶NK細胞に分化しました（図1）。また、Themis2を欠損する免疫記憶NK細胞は、ウイルス感染細胞に対し、未感作^{注3)}のNK細胞や、野生型免疫記憶NK細胞よりも、ウイルス感染細胞に対して強い細胞傷害活性を示すとともに（図2）、サイトメガロウイルスの再感染に対し、野生型記憶NK細胞よりも強い増殖能を示すことが分かりました（図3）。さらに、Themis2欠損免疫記憶NK細胞を未感染マウスに移入すると、サイトメガロウイルス感染に対して強いウイルス排除能を示しました（図4）。加えて、Themis2は、細胞質で免疫記憶NK細胞の細胞傷害活性や増殖に関するシグナル伝達を抑えるだけでなく、転写因子^{注4)}Zfp740と結合し、免疫記憶NK細胞の生存に関与する遺伝子発現を制御することが明らかになりました（図5）

今後の展開

本研究により、Themis2がNK細胞の免疫記憶NK細胞への分化や、その機能を抑えていることが、初めて示されました。Themis2を標的として、免疫記憶NK細胞の分化や機能を増強し、ウイルス感染症をより良く制御できる可能性があります。また、NK細胞はがん細胞も強力に殺傷する能力を持つことから、NK細胞の活性を増強させるがん免疫療法への応用も考えられます。

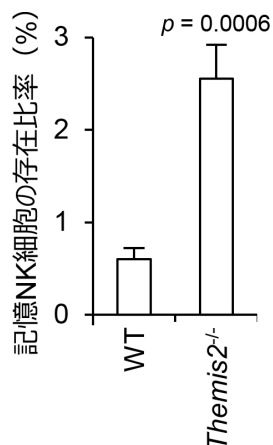


図1 サイトメガロウイルス感染1か月後の、脾臓における野生型 (WT)、および *Themis2* を欠損する (*Themis2*^{-/-}) 免疫記憶 NK 細胞の存在比率。

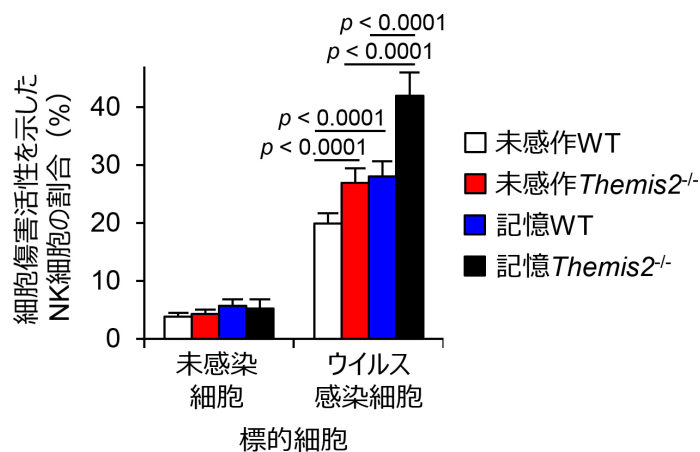


図2 ウイルス感染細胞に対する、野生型 (WT) 未感染 NK 細胞、*Themis2* を欠損する (*Themis2*^{-/-}) 未感染 NK 細胞、WT 免疫記憶 NK 細胞、*Themis2*^{-/-}免疫記憶 NK 細胞の細胞傷害活性。

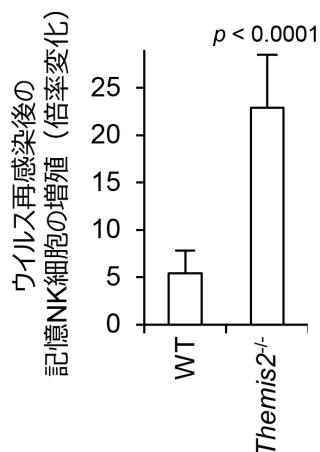


図3 サイトメガロウイルス再感染後の、脾臓における野生型 (WT)、および *Themis2* を欠損する (*Themis2*^{-/-}) 免疫記憶 NK 細胞の増殖。

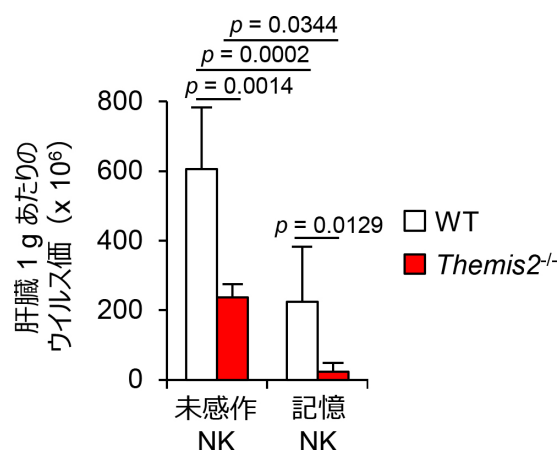


図4 野生型 (WT) 未感作 NK 細胞、および *Themis2* を欠損する (*Themis2*^{-/-}) 未感作 NK 細胞、WT 免疫記憶 NK 細胞、*Themis2*^{-/-}免疫記憶 NK 細胞を移植されたマウスに対し、サイトメガロウイルスを感染させた後の肝臓のウイルス価。

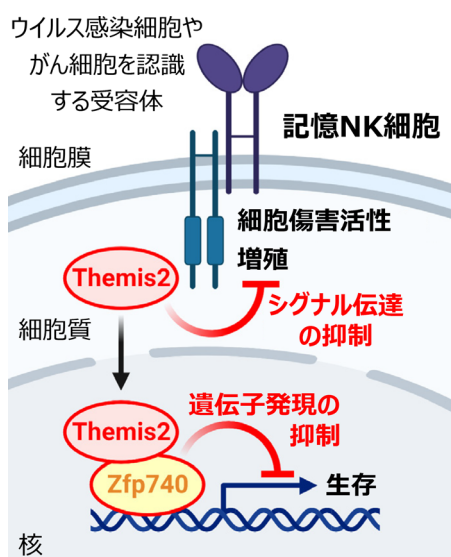


図5 本研究成果の概要図。Themis2 は、細胞傷害活性や増殖を制御するシグナル伝達を抑えるとともに、転写因子 Zfp740 と結合して生存に関与する遺伝子発現を制御する。

用語解説

注1) 抗体産生細胞

免疫細胞の一種である B 細胞が、抗原に出会った後に分化する、抗体を作り出すことに特化した細胞。

注2) サイトメガロウイルス

ヘルペスウイルス属のウイルスの一種。免疫系が不完全な胎児や、免疫不全状態（骨髄移植・臓器移植・AIDS・免疫抑制療法を受けた患者）ではウイルス増殖による臓器障害を引き起こすことがある。

注3) 未感作

病原体や抗原に出会っておらず、刺激を受けたことのない細胞の状態。

注4) 転写因子

遺伝子発現を開始、または調節（活性化、および抑制）するのに必要なタンパク質を表す総称。

研究資金

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業、特定非営利活動法人日本免疫学会若手免疫学研究推進事業、国立大学法人筑波大学研究力強化のための令和 3 年度特別支援シーディングプログラム、筑波大学研究基盤支援プログラムの支援を受けて行われました。

掲載論文

- 【題 名】 Themis2 regulates natural killer cell memory function and formation
(Themis2 はナチュラルキラー細胞記憶の機能と形成を制御する)
- 【著者名】 Tsukasa Nabekura、Elfira Amalia Deborah、Saeko Tahara、Yuya Arai、Paul E. Love、Koichiro Kako、Akiyoshi Fukamizu、Masafumi Muratani、Akira Shibuya
- 【掲載誌】 Nature Communications
- 【掲載日】 2023 年 11 月 8 日
- 【DOI】 10.1038/s41467-023-42578-8

問合わせ先

【研究に関すること】

澁谷 彰（しぶや あきら）

筑波大学医学医療系 教授／革新的創薬開発研究センター センター長

URL: <http://immuno-tsukuba.com>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp