

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H06220

研究課題名(和文) 個体レベルでの物理的損傷に対する応答・修復メカニズムの解明

研究課題名(英文) Genetic mechanisms that regulate stress responses in Drosophila

研究代表者

俞 史幹 (Yoo, Sa Kan)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

研究者番号：30768213

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、個体レベルでの傷などに対する応答・修復メカニズムの解明を目指した。生体は損傷に対する修復能を持っている。本研究は、ショウジョウバエを用いて、従来、培養細胞や哺乳類では解析するのが非常に困難な、個体レベルでの損傷応答メカニズムの基本原理の解明を目指した。その成果として、傷応答機構、傷シグナルの他の臓器への影響、傷以外の癌・老化・栄養異常・酸化ストレスなどの様々なストレスへの応答メカニズムの一端を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトなど哺乳類において、組織修復は生存に必須である。咳や腸の蠕動運動、摩擦、感染など、物理的・化学的刺激による小さな傷は日常的に起こり、修復される。熱傷瘢痕、ケロイド、褥瘡、糖尿病性壊疽、心筋梗塞などは、組織修復異常がその病態の根本である。現代人類の敵、癌は、「治らない傷」と呼ばれ、癌と傷は、病理学、生化学、生理学的に非常に共通点が多く、癌は、慢性損傷として捉えなおすことができる。このように、損傷応答・組織修復は、医学、生物学的観点から非常に重要であるが、そのメカニズムの多くは未だに謎に包まれている。私たちの研究は、このように非常に重要な損傷応答・組織修復メカニズムの一端を解明した。

研究成果の概要(英文)：The original purpose of this research proposal was to investigate the mechanisms of wound responses and tissue repair, which animals possess innately. We tackled this problem using genetics of *Drosophila melanogaster*. We revealed the mechanisms of the following events: wound response, systemic effects of wounding to different organs and responses to stresses other than wounding, such as cancer, aging, abnormal nutrition and oxidative stress.

研究分野：ストレス応答

キーワード：ストレス応答

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

本研究は、個体レベルでの傷などに対する応答・修復メカニズムの解明を目指した。生体は損傷に対する修復能を持っている。数細胞レベルの損傷に対する組織修復は日常的に生じている一方、大きな傷をうけると、線維化の結果傷跡として残る場合もあれば、完全な組織再生が行われる場合もある。また組織損傷は全身への影響もあり、これは急性ショック症状として臨床的に問題となる。組織修復メカニズムが組織の種類や年齢に依存することは分かっていたが、そのメカニズムの詳細は未知である。本研究は、ショウジョウバエを用いて、従来、培養細胞や哺乳類では解析するのが非常に困難な、個体レベルでの損傷応答メカニズムの基本原理の解明を目指した。

2. 研究の目的

(1) 傷応答メカニズムの解明

科研費申請時の時点で、PlexinA が組織修復に重要ということを見出していたが、その分子機構については明らかではなかった。PlexinA がどのようなメカニズムにより上皮の組織修復を制御するのかを明らかにすることが目的であった。

(2) 傷シグナルによる臓器連関損傷応答シグナルの解明

ある臓器の物理的損傷が、違う臓器にどのような影響を与えるかを明らかにする。私たちは、左右一対ある翅原基の、右側にのみ物理的損傷を与えると、反対側（左側）の翅原基に影響が出ることを見いだしており、その分子メカニズムを明らかにすることが目的であった。

(3) 傷以外の癌、老化、栄養異常、酸化ストレス、飢餓、DNA ダメージなど様々なストレスに対する応答メカニズムの解明

傷以外の様々なストレスへの応答において、共通する分子メカニズムが存在するのを明らかにすることが当初の目的であった。

(4) 分泌ペプチド

個体レベルでのストレス応答に関与していると想定される新規の分泌ペプチドの解析を行うことが目的であった。

3. 研究の方法

(1) 傷応答メカニズムの解明

PlexinA がどのようなメカニズムにより組織修復を制御しているのかを、ショウジョウバエのイマジナルディスクにおいて、RNAi を用いた遺伝学的解析、confocal microscopy, FRAP 解析を行うことで明らかにする。

(2) 傷シグナルによる臓器連関損傷応答シグナルの解明

右側のみに物理的損傷を与えた時に、反対側臓器にどのような影響がでるのかを RNAseq を用いて解析する。また、物理的損傷を与えた時におこるネクロシスを感知できるシステムを構築する。

(3) 傷以外の癌、老化、栄養異常、酸化ストレス、飢餓、DNA ダメージなど様々なストレスに対する応答メカニズムの解明

1000 系統の EMS 系統を用いて、様々なストレスに対する抵抗性を調べる。最終的には、様々なストレスに抵抗性のある系統について全ゲノムシーケンスを行い、責任遺伝子を同定する。

(4) 分泌ペプチド

個体レベルでのストレス応答に関与していると想定される新規の分泌ペプチドの解析を行う。そのために、過剰発現、ノックアウト、ノックダウンを行い、その表現形を解析する。

4. 研究成果

(1) 傷応答メカニズムの解明

PlexinA が Rap1 を介して、Cadherin のダイナミクスを制御することで、上皮の組織修復を制御することを明らかにした (Fig1)。上皮に傷が与えられると、PlexinA の発現が上昇し、それにより、Rap1 が阻害され、Cadherin と F-actin のカップリングが弱まり、細胞接着が弱くなる。また同様のメカニズムが、ゼブラフィッシュ の組織修復においても存在することを明らかにした。この発見を、Nature Communications において報告した (Yoo et al. Nature Communications. 2016)。

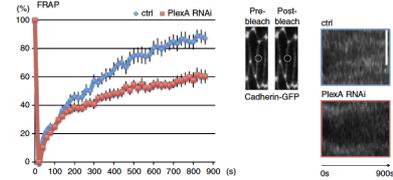


Fig1 Plexin による cadherin の制御

(2) 傷シグナルによる臓器連関損傷応答シグナルの解明

ある臓器の物理的損傷が、違う臓器にどのような影響を与えるかを明らかにする。私たちは、左右一対ある翅原基の、右側にのみ物理的損傷を与えると、反対側 (左側) の翅原基に影響が出ることを見いだしており、その分子メカニズムを明らかにすることが目的であった。RNAseq を行い、その解析から heat shock proteins について、右側臓器に損傷を与えた時に左側臓器でその発現が上がることを見出した (Fig 2)。今後は、どの heat shock proteins が実際に臓器連関損傷応答シグナルとして機能するのかを解明する。

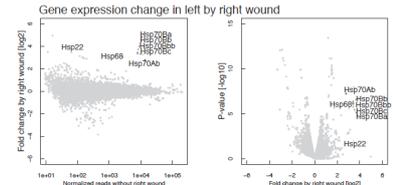


Fig 2 右翅原基に傷をつけた状態での、左翅原基における RNAseq

また、物理的損傷を与えた時におこるネクローシスを感知できるシステムを構築するために、ネクロセンサーというバイオセンサーを作成した (Fig 3)。ネクロセンサーは、傷以外にも様々なストレスによるネクローシスを感知することができる。この成果を論文にまとめて投稿した。

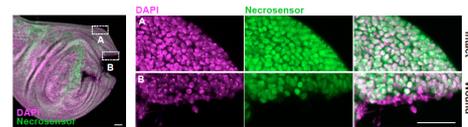


Fig 3 傷によるネクローシスを感知する Necrosensor の作成

(3) 傷以外の癌、老化、栄養異常、酸化ストレス、飢餓、DNA ダメージなど様々なストレスに対する応答メカニズムの解明

1000 系統の EMS ライブラリーを用いて、様々なストレス応答に対して、抵抗性を調べ上げた。それにより、異なるストレスに対する抵抗性の間に興味深い相関を見出した。また、いくつかのストレスに強い変異体が見いだした。これらの変異体からゲノムを回収し、全ゲノムシーケンスを行うことで候補遺伝子を絞り込んだ。また、当初の目的とは異なるが、癌ストレスについては、局所的に何が起こっているのかを理解する必要性を感じ、そのストレスの本態について詳細に解析した。詳細な遺伝学的解析により、Src が Slpr の下流で、JNK を介して細胞死を、p38 を介して細胞増殖を制御することを見出した (Fig 4)。p38 を介した細胞増殖には、栄養を介した Tor の制御が関与していることを見出している。これらの成果を論文としてまとめて投稿した。

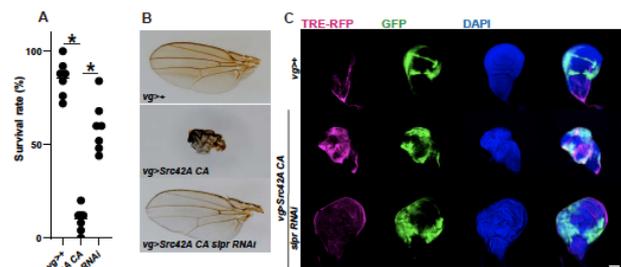


Fig 4 Src による癌ストレスは Slpr を介する。Slpr の下流で JNK シグナルが働く。

(4) 分泌ペプチド

エンケファリンホモログやその受容体、また複数の新規の分泌ペプチドについて、ノックアウト系統、過剰発現系統を作成して、その表現形を調べた。顕著な表現型の確認には至っていないが、今後、表現型の確認のための条件検討を引き続き行っていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sa Kan Yoo, Heath G. Pascoe, Telmo Pereira, Shu Kondo, Antonio Jacinto, Xuewu Zhang, Iswar Hariharan	4. 巻 -
2. 論文標題 Plexins function in epithelial repair in both Drosophila and zebrafish	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/ncomms12282	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 4件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Lynna Yang, 兪史幹
2. 発表標題 The role of hydroxyproline in cancer-induced organismal death
3. 学会等名 Drosophila as a cancer model (Spain) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池川優子、兪史幹
2. 発表標題 Discovery of the first drosophila BH3-only protein Sayonara
3. 学会等名 International cell death society 25th anniversary meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兪史幹
2. 発表標題 ショウジョウバエにおける細胞死の新しい制御機構
3. 学会等名 第28回日本Cell Death学会 学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 俞史幹
2. 発表標題 How do organisms cope with disruption of homeostasis
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 俞史幹
2. 発表標題 An ABC transporter regulates aging-induced intestinal stem cell dysplasia
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 俞 史幹
2. 発表標題 生物はどのようにして組織恒常性破綻に対応するか?
3. 学会等名 第39回日本炎症・再生医学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西田弘、俞史幹
2. 発表標題 A phenotypic landscape of mechanisms underlying resistance to multiple stressors
3. 学会等名 59th Annual Drosophila Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木彩伽、西村隆史、俞史幹
2. 発表標題 An ABC transporter regulates aging-induced intestinal stem cell dysplasia in the midgut of Drosophila
3. 学会等名 59th Annual Drosophila Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木彩伽、西村隆史、俞史幹
2. 発表標題 An ABC transporter regulates aging-induced intestinal stem cell dysplasia in the midgut of Drosophila
3. 学会等名 JDRC13
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福原彩、俞史幹
2. 発表標題 Developmental origin of aging-induced drift in stem cell dynamics in Drosophila
3. 学会等名 JDRC13
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内藤早紀、西田弘、俞史幹
2. 発表標題 Genetic screening to identify factors that regulate lifespan and homeostasis of intestinal stem cells during aging in Drosophila
3. 学会等名 60th Annual Drosophila Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sa Kan Yoo
2. 発表標題 An evolutionarily ancient role for Plexins during epithelial repair in Drosophila and zebrafish
3. 学会等名 JDRC12
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----