

平成22年 5月28日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790054
 研究課題名（和文）ホスファチジルイノシトール3リン酸5-キナーゼの高次生理機能解析

研究課題名（英文）Physiological Function of PI 3-phosphate 5-kinase

研究代表者

高須賀 俊輔（TAKASUGA SHUNSUKE）
 秋田大学・大学院医学系研究科・助教
 研究者番号：90375262

研究成果の概要（和文）：ホスファチジルイノシトール-3,5-ニリン酸は最後に発見されたホスファチジルイノシトールニリン酸であり、ホスファチジルイノシトール3リン酸5-キナーゼにより産生される。我々はこの脂質のマウス成体での役割を明らかにするためのキナーゼ遺伝子欠損マウスを作製した。この中枢神経系特異的な遺伝子欠損マウスは、顕著な空胞化を呈し、短命であった。これらの結果は、この酵素の産物が中枢神経系で必須の役割を持つことを示すものである。

研究成果の概要（英文）：PI 3, 5-bisphosphate is a most recently discovered PIP 2 isomer, produced via phosphorylation of PI 3-phosphate by PIP kinases. To understand the physiological function of PI 3,5-bisphosphate in adult mice, we recently generated a knockout mouse strain. Deletion of this molecule causes an excessive vacuolation in brain and a premature death. Our results indicate that this molecule is essential for central nervous system.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：細胞生物学、イノシトールリン脂質

1. 研究開始当初の背景

イノシトールリン脂質は、様々な細胞機能を制御する脂質セカンドメッセンジャーである。中でも良く機能が理解されているのは、ホスファチジルイノシトール3リン酸[PIP3]である。PIP3は、細胞増殖刺激により産生され、標的となるAktなどのキナーゼを活性化し、細胞の増殖に必須の役割を果たしている。そのため、このPIP3を分解

する脱リン酸化酵素であるPTENの機能異常により、細胞内に過剰なPIP3が蓄積すると、発がんの原因となることが証明されている。さらに、これらの知見に基づき、PIP3を産生するリン酸化酵素ホスホイノシタイド3-キナーゼを標的とした抗がん剤の開発も精力的に進められている。このようにイノシトールリン脂質の正常な代謝を理解することは、疾病の理解、新たな治療薬の開

発に極めて有用であり、その他のイノシトールリン脂質についても、生理機能の解析が待たれる状況であった。研究代表者の着目したホスファチジルイノシール 3,5-ニリン酸[PI(3,5)P₂]は、全7種類のイノシトールリン脂質の中でも最後に発見された分子種であり、その機能については不明な点が多かった。そこで、PI(3,5)P₂ の唯一の合成酵素であるホスファチジルイノシール3リン酸5-キナーゼ(PIP3KIII)の遺伝子欠損細胞およびマウスを独自に作製し、解析を行った。これらの表現型解析により、PI(3,5)P₂ および PIP3KIII がマウスの個体発生に必須の因子であるという新規の知見を得ており、それを発展させる形で本研究課題を立案した。

2. 研究の目的

本研究課題では、高等脊椎動物であるマウス成体の高次機能におけるPIP3KIIIおよびホスファチジルイノシール 3,5-ニリン酸の生理的、病態生理的な意義を明らかにすることで、ヒトの病態の理解に繋げることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究課題では、マウス成体の高次機能におけるPIP3KIIIおよびホスファチジルイノシール 3,5-ニリン酸の生理的、病態生理的な意義を明らかにするために、組織特異的なPIP3KIII 遺伝子欠損マウスを独自に作製し、その表現型の解析を行う計画とした。特に中枢神経系における役割に着目し、中枢神経系特異的な遺伝子欠損マウスを作製し、解析を行った。

4. 研究成果

世界に先駆けて作製に成功した中枢神経系特異的な PIP3KIII 遺伝子欠損マウスは、以下のような興味深い表現型を示した。

(1)短命:生後 10 日頃から、成長(体重増加)が著しく低下し、生後 2~3 週の間全例が死亡した(図1、図2)。しかしながら、神経幹細胞における遺伝子欠損を誘導したにも関わらず、脳の発生は、ほぼ正常であり、死亡直前における脳重量についても、PIP3KIII 欠損の影響は全く認められなかった(図3)。

(2)四肢の振戦:生後 2 週頃より、四肢の振戦が認められた。安静時には認められず、歩行時に顕著であった。尾懸垂試験の結果からも、神経原性の運動異常であることが確認できた。

(3)全脳における著しい空胞化:全脳の組織学的解析を行い、脳の全域において、著しい空胞化が生じていることを見出した(図4)。この空胞化は神経細胞死に伴うものではなく、細胞内小胞の巨大化により生じるという特異なものであった。

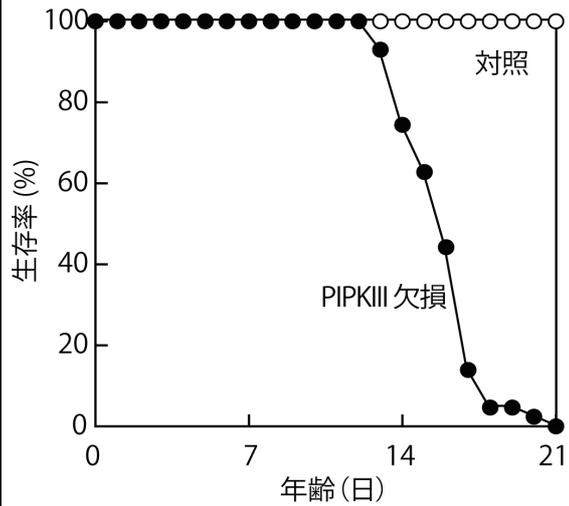


図1 PIP3KIII 欠損による短命化 (生存曲線)

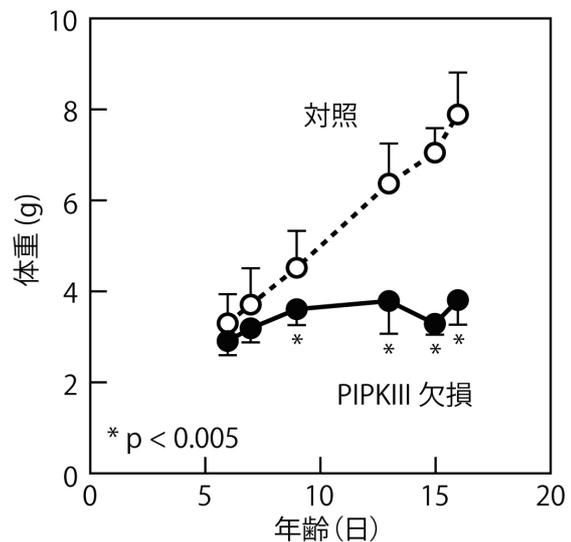


図2 PIP3KIII 欠損による成長障害 (体重変化)

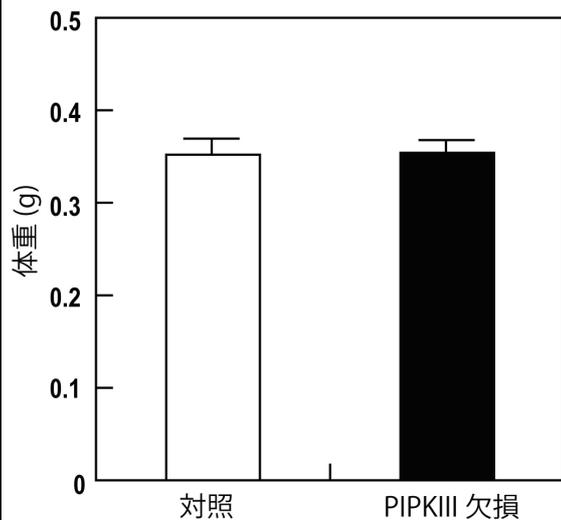
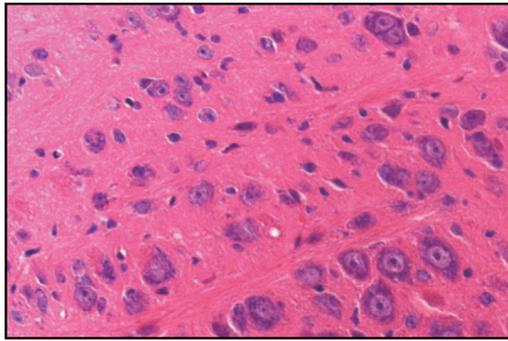
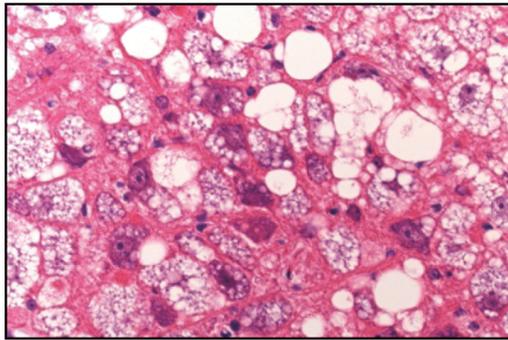


図3 脳の発達に対する PIP3KIII 欠損の影響



対照 (野生型)



PIPKIII 遺伝子欠損 50 μm

図4 脳のヘマトキシリン・エオジン染色像

(4)これらの結果は、中枢神経の機能に PIPKIII により産生される PI(3,5)P₂ が極めて重要であることを示すものであり、PI(3,5)P₂ の代謝異常が様々な疾病の原因となりうることを示唆するものである。今後、本研究課題を進展させることで、神経変性疾患の発生機序の解明や、新たな創薬標的分子の発見につながる事が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

(1)Sasaki J, Kofuji S, Itoh R, Momiyama T, Takayama K, Murakami H, Chida S, Tsuya Y, Takasuga S, Eguchi S, Asanuma K, Horie Y, Miura K, Davies EM, Mitchell C, Yamazaki M, Hirai H, Takenawa T, Suzuki A, Sasaki T.
The PtdIns(3,4)P(2) phosphatase INPP4A is a suppressor of excitotoxic neuronal death.
Nature **465**, 497-501. (2010)
査読有り

(2)Hiramane Y, Emoto H, Takasuga S, Hiramatsu R.
Novel acyl-coenzyme A:monoacylglycerol acyltransferase plays an important role in hepatic triacylglycerol secretion.
J Lipid Res. **51**, 1424-31.(2010)
査読有り

(3)Sasaki T, Takasuga S, Sasaki J, Kofuji S, Eguchi S, Yamazaki M, Suzuki A.
Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases.

Prog Lipid Res. **48**, 307-43.(2009)

査読有り

(4)Nishikimi A, Fukuhara H, Su W, Hongu T, Takasuga S, Mihara H, Cao Q, Sanematsu F, Kanai M, Hasegawa H, Tanaka Y, Shibasaki M, Kanaho Y, Sasaki T, Frohman MA, Fukui Y.

Sequential regulation of DOCK2 dynamics by two phospholipids during neutrophil chemotaxis.
Science **324**, 384-7.(2009)

査読有り

[学会発表] (計5件)

(1)Takasuga S, Sasaki J, Suzuki A, Sasaki T.
Physiological function of phosphatidylinositol-3,5-bisphosphate *in vivo*

The 62nd Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology, 19th May 2010, Osaka, Japan

(2)Takasuga S, Iizuka R, Sato Y, Suzuki A, Sasaki T.

Physiological function of phosphatidylinositol 3-Phosphate 5-kinase

Biochemistry and Molecular Biology (BMB2008, The 31st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, The 81st Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society), 9th Dec 2008, Kobe, Japan

(3)Takasuga S, Sato Y, Iizuka R, Chida S, Sasaki J, Suzuki A, Sasaki T.

A Sac domain phosphoinositide phosphatase, Sac3 is a regulatory subunit of type III phosphatidylinositol phosphate kinase

The 8th International Conference on Protein Phosphatases, 12th, Nov, 2008, Maebashi, Japan

(4)高須賀俊輔

ホスファチジルイノシトール3リン酸5-キナーゼの生理機能

第2回群馬大・秋田大 GCOE 若手シンポジウム、2008年7月18日、前橋市

(5)Takasuga S, Sasaki J, Iizuka R, Sato Y, Suzuki A, Sasaki T.

Physiological function of phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate in mammalian cells

The 60th Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology, 1st Jul 2010, Yokohama, Japan

6. 研究組織

(1)研究代表者

高須賀 俊輔(TAKASUGA SHUNSUKE)

秋田大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号:90375262

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: