

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659146

研究課題名(和文)細胞融合の分子制御機構と組織の再生・修復および発癌機構における役割

研究課題名(英文)Roles of cell fusion in tissue regeneration and tumorigenesis

研究代表者

中村 勉(Nakamura, Tsutomu)

東京大学・分子細胞生物学研究所・講師

研究者番号：30302798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：胎盤形成時の細胞融合を制御する遺伝子GCM1、SynAおよびSynBの発現を調べ、SynAは脳、肺、肝臓、腸管、皮膚など様々な組織で発現していることや、GCM1が腎臓で多く発現していることを見出した。胎盤以外の組織でみられる細胞融合に広く関与していることが示唆された。さらに、傷害を受けた組織の修復・再生におけるGCM1、SynA、SynBの関与を調べた。腎傷害後2-5日で全ての発現上昇が見られ、大腸においてもSynAの発現上昇を見出した。この結果は組織傷害後の修復・再生過程で細胞融合を誘導している可能性を示している。これらの知見は、臓器移植において移植臓器の保護に応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We analyzed expression of GCM1, SynA and SynB, genes that are known to regulate cell fusion during placentation, in mouse tissues. We found that GCM1 and SynA are expressed several tissues besides placenta, including the brain, lung, liver, intestine, skin and kidney. This finding suggests that GCM1 and SynA are also involved in cell fusion in these tissues. We next examined whether GCM1, SynA and SynB are involved in cell fusion during repair and regeneration of injured tissues. We found that expression of GCM1, SynA and SynB are markedly up-regulated in the kidney injured by ischemia-reperfusion. Expression of SynA is also increased in the crypt of the intestine injured by ulcerative colitis. These results suggest that GCM1, SynA and SynB induce cell fusion during repair and regeneration of injured tissues. Our findings may contribute to protection of the transplanted organ from ischemia-reperfusion injury.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：細胞融合 胎盤 組織修復 組織再生 浸潤 転移 Wnt Bcl9-like

1. 研究開始当初の背景

細胞融合は筋線維、破骨細胞、胎盤のシンシチウムなど様々な細胞・組織の形態形成において必須の役割を果たしている。さらに、近年の研究により、組織の修復・再生など、予想外に広範に生体内で起こり得る現象であることが明らかとなり、生体内での細胞融合の役割が見直されつつある。また浸潤・転移など腫瘍の悪性化への関与も提唱されている。しかしながら、細胞融合を制御する分子機構には未だ不明な点が多い。組織の再生の際に細胞融合が起こるといった現象を記載した報告はあるが、細胞融合が起こることの意義や分子機構を明らかにした報告はない。がんの浸潤・転移における細胞融合に関しても、現時点ではがん細胞の遊走能獲得を説明するための説にすぎず、細胞融合を明確に証明した報告はない。細胞融合は筋細胞、破骨細胞、胎盤のシンシチウムなど特定の細胞・組織のみで見られる限定的な生物現象と考えられてきたため、制御機構に関する既知の情報是非常に少なく、未だ萌芽的な段階である。

私たちは、 β -catenin と相互作用して Wnt 標的遺伝子の転写活性化を行う Wnt シグナル活性化因子 B9L を同定した (*Cancer Res* 64, 8496-8501, 2004)。さらに、B9L ノックアウトマウスに現れる胎盤形成異常の解析など、B9L の生理機能の解析を行ってきた。その結果、「Wnt/ β -catenin/B9L シグナル 転写因子 GCM1 の発現誘導 細胞融合誘導因子 Syncytin の発現誘導 栄養芽細胞の融合」という経路を証明し、Wnt/ β -catenin/B9L シグナルが細胞融合誘導因子 Syncytin を介して細胞融合を制御することを、世界に先駆けて明らかにした (*Nat Commun* 2, 548, 2011)。すなわち、細胞融合を制御する上流シグナルを初めて明らかにした。この経路が、胎盤以外の組織で見られる細胞融合 (組織の修復・再生および腫瘍の浸潤・転移) でも機能していることを証明するべく、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、胎盤栄養芽細胞の融合を制御する分子機構に関する上記の成果を、組織の修復・再生および腫瘍の浸潤・転移の分子機構へと発展させ、細胞融合が果たしている役割とその制御機構の解明を目指した。

Wnt/ β -catenin シグナルが、腎臓・筋肉・毛包・骨など様々な組織の傷害後の修復・再生にも必須であることが明らかになってきた。しかしその具体的な機構、例えば標的遺伝子などは不明である。その一方で、種々の組織の修復・再生の際に細胞融合が起こることが明らかとなっている。これらを総合することにより、「Wnt/ β -catenin シグナル 細胞融合 傷害組織の修復・再生」という流れにより、GCM1 と Syncytin が傷害組織の修復・再生を制御すると考えた。これを検証するこ

とを第一の目的とした。

がん組織の近傍にはマクロファージや未分化骨髄球などの骨髄由来細胞が集まっており、がん細胞の生存・増殖・浸潤・転移に有利となるような微小環境形成に寄与している。近年、がん細胞がこれら遊走性の骨髄由来細胞と融合することにより浸潤能・転移能を獲得するという新たな概念が提唱されている。これらの知見に基づけば、Wnt/ β -catenin シグナルの異常かつ恒常的な活性化が起こることが知られている大腸がんや肝細胞がんなどでは、浸潤・転移能を獲得する際には、GCM1 を介した Syncytin 依存性細胞融合活性が異常に亢進し、周囲の骨髄由来細胞との融合が可能になると考えた。これを検証することを第二の目的とした。

3. 研究の方法

(1) マウス正常組織における GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現解析

Wnt シグナルがドライブした組織を X-Gal 染色や β -galactosidase に対する免疫染色で検出できる TOPGAL マウスを用いて、in situ hybridization・RT-PCR・免疫染色により、GCM1、Syncytin A (SynA)、Syncytin B (SynB) の発現を調べ、Wnt 活性との相関を検討する。

(2) 修復・再生組織における GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現解析

腎臓の虚血再灌流傷害・潰瘍性大腸炎・放射線による腸管傷害等の組織修復・再生モデルを用いて、上記と同様の手法で GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現を解析する。

(3) 浸潤・転移モデルにおける GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現解析

上記の結果を参考にして、数多く確立されている in vivo 浸潤・転移モデルから適切なモデルを選考し、浸潤・転移組織における GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現を解析する。

(4) 組織特異的 Syncytin KO マウスの解析

上記の結果に基づき、Syncytin コンディショナル KO マウスを作製する。修復・再生組織およびがんの浸潤・転移組織で Syncytin 依存性の細胞融合が実際に起きているかライブイメージングで直接確認する。Syncytin の組織特異的な欠損が組織傷害の修復・再生およびがんの浸潤・転移に与える影響を明らかにする。

4. 研究成果

(1) マウス正常組織における GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現解析

in situ hybridization や RT-PCR 法を用い、マウスの組織における融合関連遺伝子 GCM1、SynA、SynB の発現を網羅的に検証した。その結果、一般的な認識と異なり、SynA は脳、肺、

肝臓、腸管、皮膚など様々な組織で発現していることや、GCM1 が腎臓で多く発現していることを見出した。対照的に SynB はほとんど発現していなかった。胎盤形成時の細胞融合を制御する GCM1 や Syncytin が、胎盤以外の組織でも何らかの役割を担っていることが示唆された。

(2) 修復・再生組織における GCM1、Syncytin および Wnt 活性の発現解析

臓の虚血再灌流傷害モデル

マウスの GCM1 の発現が胎盤以外では腎臓で多いことに着目し、腎臓の組織障害の系で検証した。腎動脈および腎静脈をマイクロクランプで挟み血流を止め、その後開放し再灌流傷害を誘導し、経時的に発現解析を行った。その結果、傷害を受け強く炎症を起こしている領域において、傷害 2-5 日後に Wnt 標的遺伝子 Axin2、Bambi などとともに GCM1、SynA、SynB の発現上昇が見られた。特に GCM1 と SynB の発現量の間には高い相関が確認された。これは私たちが胎盤で確認したことと一致している。この結果は組織傷害後の修復・再生過程で Wnt/GCM1/Syncytin 系が機能して細胞融合を誘導している可能性を示している。

瘍性大腸炎モデル

3% dextran sodium sulfate (DSS) を含む飲料水を一週間与え、経時的に発現解析を行った。その結果、大腸のクリプト (Wnt の供給源である幹細胞が存在する) において SynA の発現上昇を見出した。マイルドな傷害が起きるとされる回腸でも SynA の発現上昇が見られたが、これは Wnt シグナル活性との相関はなかった。

(3) このように、腎臓の虚血再灌流傷害後に Wnt シグナルの活性化が起こり GCM1 および Syncytin の発現が誘導されるという知見を得た。さらに、dextran sodium sulfate 投与による潰瘍性大腸炎モデルでは、Wnt の供給源である幹細胞が存在するクリプトにおいて Syncytin の発現上昇を見出した。これらの結果は組織傷害後の修復・再生過程で Wnt/GCM1/Syncytin 系が機能して細胞融合を誘導している可能性を示している。これらは、Wnt シグナルと結びつけた私たち独自の観点から初めて導き出された結果であり、きわめて独自性・新規性の高い結果である。

(4) 正常組織の修復・再生やがんの浸潤・転移において細胞融合が必須であることが示されれば、生物学・医学の既成観念を覆すことになるため、今後も継続して本研究を推進していきたい。また、上記の知見が直ちに応用研究につながるわけではないが、例えば細胞融合を促進する薬剤の開発により組織の修復・再生を効率化できれば、臓器移植に

おいて輸送に伴う虚血・再灌流傷害から移植臓器を保護・修復することが可能になる可能性がある。膜タンパク質である Syncytin は薬剤・抗体医薬のターゲットにしやすく、前述のような移植臓器の保護・修復や浸潤・転移の克服など、臓器移植やがん治療に貢献できる可能性が期待されるため、長期的展望としてこれらの応用面も視野に入れて本研究を推進していきたい。

(5) 上記の組織修復・再生モデルを用いた解析系の確立に当初の予想以上に時間を要したため、浸潤・転移モデルにおける発現解析、および組織特異的 Syncytin KO マウスの解析に着手することはできなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

松浦憲, 地神貴文, 谷上賢瑞, 森下保幸, 足立俊吾, 千田隆夫, 野中綾, 油谷浩幸, 中村勉, 秋山徹. Wnt シグナルによる細胞融合制御メカニズムの解明~ヒト妊娠異常から組織再生、がん発症のメカニズムへ~. 第35回日本分子生物学会年会ワークショップ(細胞内シグナル伝達システムとがん研究の新展開), 2012年12月12日, 福岡

Ken Matsuura, Takafumi Jigami, Kenzui Taniue, Yasuyuki Morishita, Shungo Adachi, Takao Senda, Aya Nonaka, Hiroyuki Aburatani, Tsutomu Nakamura, Tetsu Akiyama. Regulation of cell fusion through Wnt signaling - Novel insight into cell fusion biology. EMBO Conference 30 years of Wnt signaling, 2012年6月27日-2012年7月1日, Egmond aan Zee, Netherlands

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/5ken/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 勉 (NAKAMURA, Tsutomu)
東京大学・分子細胞生物学研究所・講師
研究者番号：30302798

(2)研究分担者

松浦 憲 (MATSUURA, Ken)
東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号：10625742