

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：学術創成研究費

研究期間：2004年度～2008年度

課題番号：16GS0310

研究課題名（和文） 寿命と発生を制御するシグナル伝達ネットワーク

研究課題名（英文） Signal transduction networks regulating life span and development

研究代表者

西田 栄介（Nishida Eisuke）

京都大学・大学院生命科学研究所・教授

研究者番号：60143369

研究成果の概要：線虫において断続的飢餓が著しく寿命を促進し、Rheb 経路がその寿命促進に必要であることを発見した。脊椎動物初期胚発生過程の背腹軸決定において、フィードバックインヒビター Sprouty による ERK 経路の活性化時間の制御が必須であることを発見した。ERK の核内での作用機構について解析し、ERK 依存的な遺伝子の転写促進が起こる場合に、その遺伝子の近傍領域の転写も活性化する「転写の波及効果」を発見した。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-------------|-------------|-------------|
| 2004年度 | 94,100,000 | 28,230,000 | 122,330,000 |
| 2005年度 | 99,100,000 | 29,730,000 | 128,830,000 |
| 2006年度 | 103,300,000 | 30,990,000 | 134,290,000 |
| 2007年度 | 105,000,000 | 31,500,000 | 136,500,000 |
| 2008年度 | 105,000,000 | 31,500,000 | 136,500,000 |
| 総計 | 506,500,000 | 151,950,000 | 658,450,000 |

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：シグナル伝達、寿命、発生

1. 研究開始当初の背景

近年の寿命・老化研究と発生生物学研究はともに、細胞増殖因子および関連因子のシグナル伝達経路群が、これらの生命現象の諸過程を制御する分子機構として極めて重要であることを明らかにしている。しかしながら同一の限られたシグナル伝達経路が生命現象の諸過程において繰り返し使われながら、個々の局面で細胞応答の特異性をどのように決定しているか、という根源的な問いに答えが見い出されていない。

2. 研究の目的

第一に、個々のシグナル伝達経路が発生および寿命制御の諸過程に果たす役割とその際のターゲット遺伝子を同定すること、ならびに個々の生命諸過程を制御する新たなシグナル伝達機構を見出すことを目的とする。第二には、シグナル伝達の特異性決定の分子機構の解明のために、シグナル伝達ネットワークの時空間的調節機構を明らかにすることを目指す。

3. 研究の方法

最先端の研究手法により、包括体系的（線虫における系統的 RNAi、Xenopus における系統的アンチセンス MO、DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析など）でしかも分子細胞生物学的に精密な解析を行なった。

4. 研究成果

線虫において、インスリン/IGF-1 シグナル伝達経路およびその下流の転写因子 DAF-16 が寿命を制御していることが知られていたが、DAF-16 の転写ターゲットは不明であった。そこで我々は、DAF-16 が結合するとされる DNA 配列を線虫ゲノム上からデータベースを用いて検索し、転写ターゲットの候補として 19 の遺伝子を同定した。このうちのひとつとして、哺乳類ベータカロテンモノオキシゲナーゼ（ベータカロテンを代謝してレチノイドを生成することが知られている）に高い相同性をもつ *bml-1* を同定し、*bml-1* が寿命を正に制御していること、さらにベータカロテンやレチノイン酸も寿命延長効果を持つことを見出した。また我々はフィードバックインヒビター *Sef* が、ERK の核内移行を選択的に抑制し細胞質での ERK の活性は阻害しないというユニークな空間的制御因子であることを見出した。この研究成果は、単一の ERK 経路というシグナル伝達が、どのように時間的・空間的に制御されて多様な細胞応答が生じるのか、という問いに答えるものである。哺乳類初期発生分子機構についても解析を行い、着床前発生期間（受精から着床までの期間）に JNK と p38 が活性化していること、そして JNK 経路と p38 経路が胚盤胞形成に必要であることを明らかとし、ほとんど未解明であった哺乳類着床前発生のシグナル伝達機構の解明に大きく貢献することができた。

さらに我々は、寿命と食餌制限の関係に着目し、常に食餌を行うがその量を調節する食餌制限法「カロリー制限 (Calorie Restriction (CR))」よりも、食餌を十分に与える状態と全く与えない状態とを繰り返す食餌制限法「断続的飢餓 (Intermittent Fasting (IF))」の方が、線虫の寿命延長に対して効果的であることを見出した。そして IF の下流で寿命を制御するシグナル伝達経路として、低分子量 G タンパク質 Rheb とセリンスレオニンキナーゼ TOR から構成される経路を同定し、この経路が IF においては寿命を延長するが CR においては寿命を抑制するという二重の役割を持つことを示し、食餌制限による寿命延長の分子機構について画期的な成果を挙げた。ヒトを含む高等生物における老化関連疾患の発症の抑制などにも役立つ事が期待される。また脊椎動物

初期胚発生を制御するシグナル伝達について、MAP キナーゼファミリー分子を中心に、アフリカツメガエルとマウスをモデルとして解析を行ない、初期胚の背腹軸決定において、フィードバックインヒビター *Sprouty* による ERK 経路の活性化時間の制御が極めて重要であることを示した。この研究成果はシグナル伝達の時間的制御が *in vivo* で重要であることを初めて示したものであり、価値が高い。加えて我々は、哺乳類初期発生の分子機構についても解析を行い、ERK 経路がコンパクション前の哺乳類胚の細胞分裂に必須であることを明らかとした。また、シグナル経路間の新たなクロストーク（哺乳類小腸上皮細胞のホメオスタシスにおけるレチノイン酸経路と ERK 経路のクロストークなど）も同定した。

シグナル伝達における遺伝子発現変化をマイクロアレイにより網羅的に解析し、ERK の長期的活性化が、細胞増殖抑制遺伝子群の発現低下を引き起こすことにより細胞増殖を可能にしていることを明らかにした。FGF の刺激に伴って ERK 経路の下流でおこる転写をタイリングアレイにより解析した結果、ERK 依存的に活性化した転写因子 SRF が、プロモーター領域に SRF 結合部位を持つ本来の標的遺伝子の転写だけでなく、その近傍の遺伝子や遺伝子間領域の転写も促進するという新しい現象を見出し、転写の波及効果 (ripple effect) と名づけた。転写の際に特定の遺伝子だけピンポイントで狙う、という従来のイメージとは異なる新しいモデルを提唱することができた。これらの解析過程で、種々のマイクロアレイにおける解析法や、*in silico* 転写因子予測法といった多くのバイオインフォマティクスの手法を発展させた。

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39件)

1) Honjoh, S., Yamamoto, T., Uno, M., and Nishida, E. (2009). Signalling through Rheb mediates intermittent fasting-induced longevity in *C. elegans*. *Nature* 457, 726-730.

2) Hanafusa, H., Matsumoto, K., and Nishida, E. (2009). Regulation of the ERK activity duration by *Sprouty* contributes to dorsoventral patterning. *Nature Cell Biol.* 11, 106-109.

3) Ebisuya, M., Yamamoto, T., Nakajima, M., and Nishida, E. (2008). Ripples from neighbouring transcription. *Nature Cell Biol.* 10,

1106-1113.

4) Nakayama, K., Satoh, T., Igari, A., Kageyama, R., and Nishida, E. (2008). FGF induces oscillations of Hes1 expression and Ras/ERK activation. *Curr. Biol.* 18, R332-R334.

5) Nakajima, H., Yonemura, S., Murata, M., Nakamura, N., Piwnica-Worms, H., and Nishida, E. (2008). Myt1 protein kinase is essential for Golgi and ER assembly during mitotic exit. *J. Cell Biol.* 181, 89-103.

6) Toyoshima, F., Matsumura, S., Morimoto, H., Mitsushima, M., and Nishida, E. (2007). PtdIns(3,4,5)P3 regulates spindle orientation in adherent cells. *Dev. Cell* 13, 796-811.

7) Toyoshima, F., and Nishida, E. (2007). Integrin-mediated adhesion orients the spindle parallel to the substratum in an EB1- and myosin X-dependent manner. *EMBO J.* 26, 1487-1498.

8) Yamamoto, T., Ebisuya, M., Ashida, F., Okamoto, K., Yonehara, S., and Nishida, E. (2006). Continuous ERK activation downregulates antiproliferative genes throughout G1 phase to allow cell-cycle progression. *Curr. Biol.* 16, 1171-1182.

9) Nishimoto, S., and Nishida, E. (2006). MAPK signalling: ERK5 versus ERK1/2. *EMBO Rep.* 7, 782-786.

10) Maekawa, M., Yamamoto, T., Tanoue, T., Yuasa, Y., Chisaka, O., and Nishida, E. (2005). Requirement of the MAP kinase signaling pathways for mouse preimplantation development. *Development* 132, 1173-1783.

11) Nishimoto, S., Kusakabe, M., and Nishida, E. (2005). Requirement of the MEK5-ERK5 pathway for neural differentiation in *Xenopus* embryonic development. *EMBO Rep.* 6, 1064-1069.

12) Kusakabe, M., and Nishida, E. (2004). The polarity-inducing kinase Par-1 controls *Xenopus* gastrulation in cooperation with 14-3-3 and aPKC. *EMBO J.* 23, 4190-4201.

13) Torii, S., Kusakabe, M., Yamamoto, T., Maekawa, M., and Nishida, E. (2004). Sef is a spatial regulator for Ras/MAP kinase signaling. *Dev. Cell* 7, 33-44.

14) Matsubayashi, Y., Ebisuya, M., Honjoh, S.,

and Nishida, E. (2004). ERK activation propagates in epithelial cell sheets and regulates their migration during wound healing. *Curr. Biol.* 14, 731-735.

他 2 5 件

[学会発表](計 8 0 件)

1) Endo, T., Kusakabe, M., Sunadome, K., Yamamoto, T., and Nishida, E. "Serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1 (SGK1) promotes cell survival by suppressing the expression of death-inducing signaling complex (DISC) components in early *Xenopus* development." The 12th International *Xenopus* conference, Eurostrand Hotel, Leiwen, Germany, September 8-12, 2008

2) Araki, T., Kusakabe, M., and Nishida, E. "Functional analysis of EIG121L (estrogen-induced gene 121-like) in early *Xenopus* development." The 12th International *Xenopus* Conference, Eurostrand Hotel, Leiwen, Germany, September 8-12, 2008.

3) Honjoh, S., and Nishida, E. "Rheb is required for intermittent fasting-induced life span extension." 16th International *C. elegans* meeting University of California, June 26-July 1, 2007

4) Imajo, M., Kondoh, K., Yamamoto, T., Nakayama, K., and Nishida, E. "Antagonistic Interactions between the Retinoic Acid Receptor and Ras/ERK Signaling Pathways in Colorectal Cancer Cells." The 47th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, Washington Convention Center, Washington DC, USA, December 1-5, 2007

5) Okuyama, T., Kano, K., Ookuma, S., Inoue, H., Hisamoto, N., Matsumoto, K., and Nishida, E. "A screen for genes comprising *C. elegans* MAPK cascades that affect the lifespan." The 2nd East Asia *C. elegans* Meeting, The Hoam Convention Center, Seoul National University, Seoul, Korea, November 15-18, 2006

6) Nishida, E. "Signal transduction by the ERK family of MAP kinases." International Symposium of Kobe University 21st century COE program on Signal transduction In Memory of Prof. Yasutomi Nishizuka, International Conference Center Kobe, Japan, February 9-11, 2006

7) Nishimoto, S., Kusakabe, M., and Nishida, E. "The MEK5-ERK5 pathway is essential for *Xenopus* neural differentiation." 15th International Society of Developmental Biologists Congress 2005, Sydney, Australia, September 3-7, 2005.

8) Ookuma, S., Taniguchi, E., Bamba, C., Kanoh, K., Hashimoto, Y., and Nishida, E. "Extension of the lifespan of *Caenorhabditis elegans* by beta-carotene." 15th International C. elegans Conference, University of California, Los Angeles, California, USA, June 25-29, 2005

9) Nishida, E. "Signal transduction by the ERK family of MAP kinases." The First Shanghai Symposium On Signal Transduction And Cancer, Shanghai, China, August 29-September 1, 2004.

他 7 1 件

6 . 研究組織

(1)研究代表者

西田 栄介 (Nishida Eisuke)

京都大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：60143369