

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16136

研究課題名（和文）組織修復を制御する体内環境受容システムの解明

研究課題名（英文）Investigation of receptive systems for tissue repair

研究代表者

榎尾 宗志朗（Kashio, Soshiro）

東京大学・大学院薬学系研究科（薬学部）・助教

研究者番号：40823307

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、組織修復に寄与する体内環境受容システムの解明を目的とした。これまでに遠隔的な再生制御が明らかになってきたが、どのように体内環境が受容されるかについての研究は進められていなかった。そこで、ショウジョウバエ翅成虫原基の修復に寄与するGPCRスクリーニングを行なった。結果、哺乳類タキキニン受容体のオーソログであるTkR86Cが再生に寄与することが判明した。神経における高い発現が見られたことから、神経特異的にTkR86Cのノックダウンを行ったところ、修復障害が遠隔的に誘導された。本研究によって、神経におけるTkR86Cが遠隔的に再生に寄与するという、新たな修復制御システムの発見に繋がった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既存の組織再生研究は修復組織の変化に着眼したものが多かったが、本研究では傷害を受けていない周辺組織からの遠隔的な制御に着目し、再生を制御する受容システムの探索に取り組んだ。受容体の最大ファミリーであるGPCRに着目し、ショウジョウバエ翅成虫原基の修復に寄与するGPCRスクリーニングを行なった結果、神経におけるTkR86Cが遠隔的に再生に寄与するという、新たな修復制御システムの発見に繋がった。修復組織から離れたTkR86C神経がどのように修復に寄与するかの分子機構の解明は、新たな修復制御、ひいては新たな治療戦略に影響を与える端緒となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to determine the receptive systems for tissue repair.

Our recent studies indicated the importance of tissue interactions for tissue repair, however, the receptive systems for tissue repair have been still unclear. I conducted RNAi screening against G protein coupled receptors (GPCRs) in *Drosophila* wing discs. This screening identified Tachykinin like receptor 86C (TkR86C), a mammalian orthologue of Tachykinin receptors. On the basis of the expression pattern of TkR86C, I knocked down TkR86C in neuron, and I unexpectedly found that TkR86C in neuron remotely affected wing disc repair in *Drosophila*.

研究分野：生理遺伝学

キーワード：組織再生 ショウジョウバエ GPCR タキキニン

1. 研究開始当初の背景

組織再生の分子メカニズムの解明は生物学や医学における重要な課題の一つであり、様々な分子機構が明らかになってきた。しかしながら、これまで行われてきた再生研究は傷害部位における組織自律的な分子メカニズムの解析が中心であり、組織非自律的な恒常性維持機構という観点から再生を捉える研究は少なかった。その原因の一つとして、再生モデル生物の多くは組織特異的な遺伝学的解析手法が充実していないことも挙げられる。

この課題に取り組むためこれまでに、ショウジョウバエの組織特異的な遺伝学と温度感受性ジフテリア毒素(DtA^{ts})を組み合わせることで、一過的な組織傷害と非傷害組織における遺伝学的解析を並行して行える組織傷害の系を構築している(Kashio et al., PNAS, 2016)。ショウジョウバエ幼虫には翅成虫原基と呼ばれる再生能力を有する上皮組織が存在しており、変態を経て成虫の翅となり、翅の形態から傷害および再生の度合いを検証できる。この遺伝学的システムに加えて、成虫原基の修復初期における体液組成のメタローム解析により、修復時の体内環境の変動を網羅的に調べた。その結果、必須アミノ酸の一種であるトリプトファン代謝に顕著な変化が見られたため、トリプトファン代謝に焦点を当てた。トリプトファンの多くは脂肪体でキヌレニンに代謝されていることから脂肪組織特異的に代謝酵素を抑制したところ、成虫原基の組織修復が阻害されることを発見した。さらに、脂肪体におけるキヌレン酸産生の抑制が修復阻害を引き起こすことを示し、キヌレン酸産生の上流にはメチオニン代謝が存在し、脂肪体内の代謝連関も明らかとなった。

このように体液性因子が遠隔的に修復制御に寄与することが明らかになった一方、修復中の体内環境の受容システムについての研究は進められていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、組織修復に寄与する体内環境受容システムの解明を目的とした。今回、膜受容体の中でも最大ファミリーであり、広い分子種をリガンドとし、再生の文脈での網羅的解析が行われていない、G protein coupled receptor (GPCR)に着目し、ショウジョウバエ翅成虫原基の修復に寄与する GPCR の RNAi スクリーニングを行なった。

3. 研究の方法

自身がこれまで作出した DtA^{ts} による傷害の系に、成虫原基全体と一部の神経で発現する C10-Gal4 ドライバーを組み合わせ、C10-Gal4 発現領域での GPCR RNAi スクリーニングを行なった(Fig.1A)。

4. 研究成果

ショウジョウバエの全 GPCR111 遺伝子のうち 106 遺伝子に対して 200 系統の RNAi ラインを用いてスクリーニングを行なった結果、翅成虫原基の修復に寄与する候補遺伝子群が取られた。その中でも特に、哺乳類タキキニン受容体の orthologue である Tachykinin-like receptor 86C (TkR86C)に対する RNAi ラインが複数ヒットし、TkR86C が再生に寄与することが判明した(Fig.1B)。さらに作用点を調べたところ、当初想定していた翅成虫原基での発現は低く、神経における高い発現が見られたことから、神経特異的にTkR86Cのノックダウンを行ったところ、修復阻害が遠隔的に誘導された(Fig. 2)。さらに、TkR86Cのリガンドである Tk および Ntl 発現神経において Parvalbumin(PV)を発現させ神経活動を抑制したところ、翅の表現型が悪化し、リガンド発現神経の

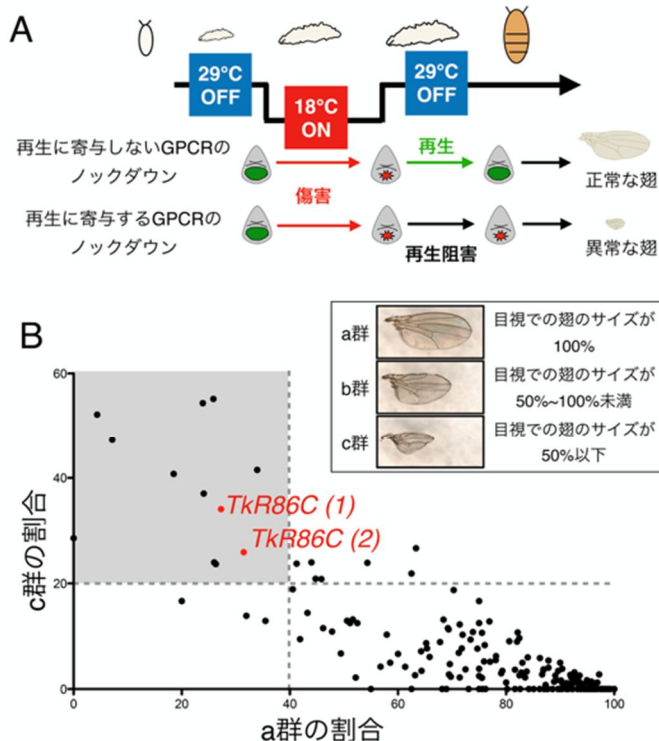


Fig.1: 再生に寄与するGPCRスクリーニング

A: スクリーニングの概要。一過的な温度変化によって傷害およびその後の再生を誘導する。

B: スクリーニングの結果。翅の形態から傷害再生の度合いを計測した。

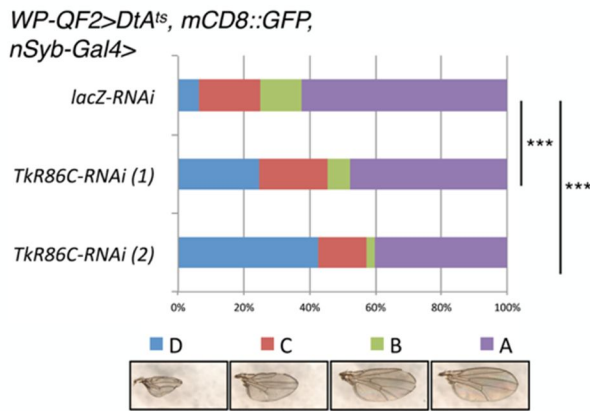
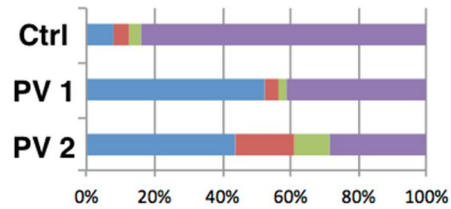


Fig.2: 神経特異的なTkR86Cの再生への寄与
神経特異的に発現するドライバーでTkR86Cをノックダウンし、再生阻害を誘引した。

神経活動が再生に寄与することを明らかにした (Fig.3)。加えて、これらのリガンド神経は傷害組織への投射や発現は観察されなかった。スクリーニングで用いた C10-Gal4 と独立して Tkr86C-T2A-LexA を用いてドライバーの共発現部位を観察したところ、局所的な神経での共発現が観察され、この特異的な神経が遠隔的再生に重要であることが示唆された (Fig.4)。

当初期待していたキヌレニン代謝産物によるGPCR への影響は binding assay では検出されなかったものの、神経における TkR86C が遠隔的に再生に寄与するという、新たな修復制御システムの発見に繋がった。修復組織から離れた TkR86C 神経がどのように修復に寄与するかの分子機構の解明は、新たな修復制御、ひいては新たな治療戦略に影響を与える端緒となることが期待される。

WP-QF2>DtA^{ts}, Tk-Gal4>



WP-QF2>DtA^{ts}, Ntl-Gal4>

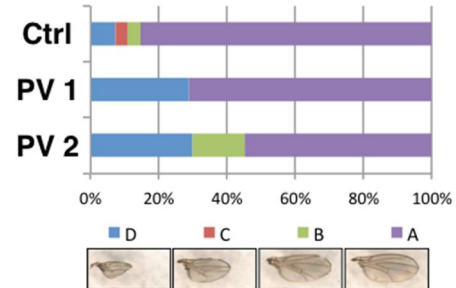


Fig.3: TkR86Cリガンド神経の遠隔的再生制御への寄与
TkR86CのリガンドであるTkおよびNtlの発現神経の活性阻害を行い、再生阻害が引き起こされた。

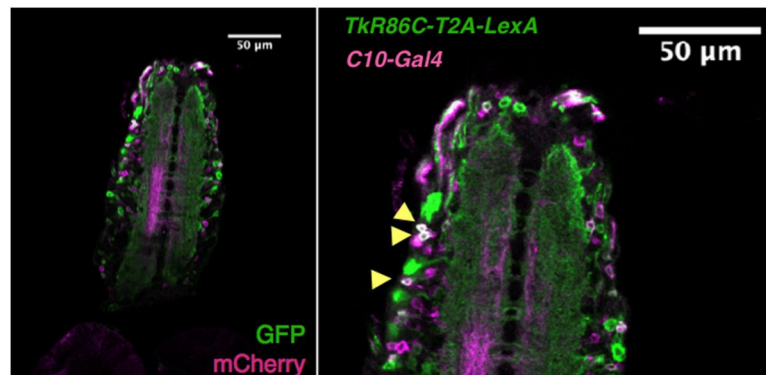


Fig.4: TkR86C作用神経の探索
TkR86Cのノックダウンによって再生阻害が誘引されたドライバーの共発現部位の同定。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kashio, S. Shu, M. and Miura, M.
2. 発表標題 Tissue nonautonomous requirement of fat body Tryptophan-Kynurenine metabolism for Drosophila disc repair
3. 学会等名 5th Asia-Pacific Drosophila Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kashio, S. Shu, M. and Miura, M.
2. 発表標題 Non-Autonomous Regulation of Tissue Repair by Systemic Factors and Sensing System in Drosophila
3. 学会等名 AMED-CREST International Symposium in Miyazaki (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kashio, S. Shu, M. and Miura, M.
2. 発表標題 ショウジョウバエ成虫原基修復における脂肪体キヌレニン代謝の遠隔的制御機構の解明
3. 学会等名 第28回日本Cell Death学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Soshiro Kashio
2. 発表標題 Non-Autonomous Regulation of Tissue Repair by Systemic Factors and Sensing System
3. 学会等名 The 4th Mortphomeostasis Meeting
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------