

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16911

研究課題名(和文) Understanding how the JNK MAPK pathway regulates axon regeneration

研究課題名(英文) Understanding how the JNK MAPK pathway regulates axon regeneration

研究代表者

PASTUHOV STRAHIL (PASTUHOV, STRAHIL)

名古屋大学・理学研究科・助教

研究者番号：00812900

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：神経軸索再生の制御機構の解明は、治療困難な脊髄損傷の治療方法の開発に繋がることを期待される。そこで、線虫を用いて、神経軸索再生に重要なMAPK経路の働きについて調べた。その結果、MAPK経路の活性化に必要な転写因子ETS-4は、普段TDPT-1によってSUMO化の修飾を受け、不活性化されるが、神経切断時に転写因子MXL-1はTDPT-1を抑制し、ETS-4の活性化および神経軸索再生を誘導ことがわかった。更なる解析から、MXL-1とTDPT-1の結合は普段MDL-1によって抑制されるが、切断時にF-box因子のSDZ-33を介したMDL-1の分解が誘導されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経細胞の軸索が事故などで切断されると、感覚や運動障害の原因となる。これまでの研究から、神経細胞は切断された軸索を再生する潜在的な能力を持っており、その制御機構は線虫から人まで保存されていることが示唆されている。しかし、特に中枢神経の神経細胞は、普段この再生能力を発揮できないため、脊髄損傷の治療は極めて難しいとされている。神経軸索再生の分子メカニズムの解明は、脊髄損傷の治療方法の開発に繋がることを期待されている。

これまでに神経軸索再生においてMAPK経路は重要な働きを担うことが分かっていたが、その制御機構について不明な点が多く残されている。本研究は、MAPK経路の上流制御機構の一つを同定した。

研究成果の概要(英文)：Understanding how neurons regenerate their damaged axons is an important research topic, expected to make a major contribution to finding efficient therapy for conditions such as spinal cord injury. We used the small worm *C. elegans* as a model organism to analyze the function and regulation of the MAPK pathway, shown previously to have a major role in regulation of axon regeneration in both humans and worms. We found that the transcription factor ETS-4, an important upstream activator of the MAPK pathway, is inhibited under normal conditions by SUMOylation by TDPT-1. Upon axon injury, another transcription factor, MXL-1, binds to TDPT-1, thereby protecting ETS-4 and allowing it to induce activation of the MAPK pathway to promote axon regeneration. Further analysis showed that MDL-1 usually prevents the binding of MXL-1 to TDPT-1, but the F-box protein SDZ-33 initiates the proteasomal degradation of MDL-1 upon axon injury to promote MAPK activity and axon regeneration.

研究分野：分子生物学

キーワード：神経軸索再生 MAPK経路 線虫

### 1. 研究開始当初の背景

神経細胞の軸索が事故などで切断されると、感覚や運動障害の原因となる。これまでの研究から、神経細胞は切断された軸索を再生する潜在的な能力を持っており、その制御機構は線虫から人まで保存されていることが示唆されている。しかし、特に中枢神経の神経細胞は、普段この再生能力を発揮できないため、脊髄損傷の治療は極めて難しいとされている。神経軸索再生の分子メカニズムの解明は、脊髄損傷の治療方法の開発に繋がることが期待されている。

### 2. 研究の目的

これまでの研究から、神経軸索再生において JNK 型 MAPK 経路は中心的な役割を担っていることがわかった。しかし、神経軸索再生においてこの MAPK 経路の制御機構や、その下流のシグナル伝達経路については、不明な点が多く残されている。そこで、MAPK 経路の周辺で機能する候補因子を解析し、この経路はどのように神経軸索再生を制御するか検討した。

### 3. 研究の方法

これまでに当研究室で行われた網羅的な遺伝学的な解析から、MAPK 経路の周辺で機能する候補因子が数多く同定されていた。それら候補因子を中心に、遺伝学および生化学的な解析を行い、神経軸索再生の制御機構の解明を試みた。

### 4. 研究成果

- (1) 線虫では神経軸索切断時に受容体の SVH-2 の発現が誘導され、その下流に MAPK 経路によって制御され、その上流に受容体の SVH-2 が機能する。SVH-2 は神経軸索切断依存的に転写因子の ETS-4 によって発現が誘導されるが、その詳細は不明だった。今回、ETS-4 は普段 TDPT-1 によって SUMO 化の修飾を受け、不活性化されるが、神経切断時に MAD 型転写因子の MXL-1 は TDPT-1 と結合することによって ETS-4 の不活性化を解消し、SVH-2 の発現と神経軸索再生の誘導に貢献することが明らかとなった。
- (2) MXL-1 と TDPT-1 の結合は普段 MDL-1 によって抑制されるが、神経軸索が切断されると F-box 因子の SDZ-33 を介した MDL-1 の分解が誘導され、その結果上述の(1)のように MXL-1 は TDPT-1 と結合し、ETS-4 の活性化、SVH-2 の発現を誘導することによって最終的に MAPK 経路を活性化し、神経軸索再生を促進することは明らかとなった。
- (3) これまでに、MAPK 経路の活性化に G タンパク質の EGL-30 が重要であることが分かった。EGL-30 経路の活性化に必要なジアシルグリセロール、DAG、を分解する因子として DGK-3 を同定し、この DGK-3 は神経軸索切断時に乳がん関連因子 BRCA1 によってポリユビキチン化され、分解されることを見出した。
- (4) MAPK 経路の上流に integrin 経路が神経軸索再生を制御することは分かっている。今回新たに、integrin 経路の活性化に関わる因子として知られている TLN-1/talin は、cAMP-Epac-Rap GTPase 経路によって活性化され、その下流に RhoA-ROCK の伝達経路に再生の促進シグナルを伝達することを明らかにした。
- (5) 以前の解析から、MAPK 経路の上流に成長因子の SVH-2 経路および細胞外マトリックスと相互作用する integrin 経路が機能することは分かっていたが、この二つ経路に関係があるか不明だった。今回、二つの経路をつなぐ因子として tensin/TNS-1 を同

定し、TNS-1 は自身の SH2 ドメインを介して自己リン酸化された SVH-2 のチロシンと、そして自身の PTB ドメインを介して、ベータインテグリンの PAT-3 と結合することによって、MAPK 経路への下流のシグナル伝達効率を向上させることによって神経軸索再生を促進することが分かった。

<引用文献>

Pastuhov SI, Fujiki K, Nix P, Kanao S, Bastiani M, Matsumoto K, Hisamoto N., Endocannabinoid-G $\alpha$  signalling inhibits axon regeneration in *Caenorhabditis elegans* by antagonizing Gq -PKC-JNK signalling, *Nat Commun.* 2012;3:1136

Pastuhov SI, Fujiki K, Tsuge A, Asai K, Ishikawa S, Hirose K, Matsumoto K, Hisamoto N., The Core Molecular Machinery Used for Engulfment of Apoptotic Cells Regulates the JNK Pathway Mediating Axon Regeneration in *Caenorhabditis elegans*, *J Neurosci.* 2016 Sep 14;36(37):9710-21.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hisamoto Naoki, Shimizu Tatsuhiro, Asai Kazuma, Sakai Yoshiki, Pastuhov Strahil I., Hanafusa Hiroshi, Matsumoto Kunihiro	4. 巻 39
2. 論文標題 C. elegans Tensin Promotes Axon Regeneration by Linking the Met-like SVH-2 and Integrin Signaling Pathways	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 5662 ~ 5672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2059-18.2019	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 -
1. 著者名 Sakai Yoshiki, Hanafusa Hiroshi, Pastuhov Strahil Iv, Shimizu Tatsuhiro, Li Chun, Hisamoto Naoki, Matsumoto Kunihiro	4. 巻 20
2. 論文標題 TDP2 Negatively Regulates Axon Regeneration by Inducing SUMOylation of an Ets Transcription Factor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e47517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201847517	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 -
1. 著者名 Shimizu Tatsuhiro, Pastuhov Strahil I., Hanafusa Hiroshi, Sakai Yoshiki, Todoroki Yasuko, Hisamoto Naoki, Matsumoto Kunihiro	4. 巻 41
2. 論文標題 Caenorhabditis elegans F-Box Protein Promotes Axon Regeneration by Inducing Degradation of the Mad Transcription Factor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2373 ~ 2381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1024-20.2021	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 -
1. 著者名 Sakai Yoshiki, Hanafusa Hiroshi, Shimizu Tatsuhiro, Pastuhov Strahil I., Hisamoto Naoki, Matsumoto Kunihiro	4. 巻 41
2. 論文標題 BRCA1/BARD1 Regulates Axon Regeneration in Concert with the Gq $\beta$ DAG Signaling Network	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2842 ~ 2853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1806-20.2021	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 -

1. 著者名 Sakai Yoshiki, Tsunekawa Mayuka, Ohta Kohei, Shimizu Tatsuhiro, Pastuhov Strahil Iv., Hanafusa Hiroshi, Hisamoto Naoki, Matsumoto Kunihiro	4. 巻 41
2. 論文標題 The integrin signaling network promotes axon regeneration via the Src?ephexin?RhoA GTPase signaling axis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 JN ~ RM-2456-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2456-20.2021	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Strahil Iv. Pastuhov, Naoki Hisamoto, Anna Tsuge, Tatsuhiro Shimizu, Hiroshi Hanafusa, Kunihiro Matsumoto
2. 発表標題 "Phosphatidylserine exposure mediated by ABC transporter activates the integrin signaling pathway promoting axon regeneration"
3. 学会等名 International Worm Meeting (国際学会)
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
---------	---------