

令和 2 年 9 月 11 日現在

機関番号：23903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06070・19K21193

研究課題名(和文) TGF-betaシグナル経路が制御する繊毛形成の機序の解明

研究課題名(英文) The molecular mechanism of ciliogenesis controlled by TGF-beta signaling

研究代表者

加藤 洋一 (Kato, Yoichi)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：10815161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトのほぼ全ての細胞表面に存在するアンテナ状の繊毛は外部からの刺激を細胞内に伝え、その異常は精神遅延、多発性嚢胞腎、網膜障害など多岐に渡る症状を引き起こし、繊毛病と総称される。本研究では、繊毛病の原因となる遺伝子の異常によって起こる病態の機序を解明し、その病態を形成する過程に関わる分子の候補を発見した。これらの候補分子は今後の繊毛病治療の確立のための標的分子となる可能性を秘めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

繊毛病には共通する臨床症状群の組み合わせや重症度の違いから名付けられた複数の症候群が含まれているが、個々の発生頻度は低い。異なる症候群は原因遺伝子の如何を問わず、繊毛の異常で起こされる病態の発生機序は共通であると考えられる。そのため、繊毛病全体を考えると病態解明や治療法の確立は社会的意義が高い。実際に繊毛病の一つの遺伝性多発性嚢胞腎患者は国内で約3万人を数えている。本研究では、これらの共通の病態機序を解明する鍵と考えられる候補分子を発見した。

研究成果の概要(英文)：Cilia are present on almost every cell type in the human body and have emerged as a key organelle in the sensory processes and cellular signaling. Defects of cilia structure and function result in a wide range of human disease symptoms referred to as ciliopathies. In this project, the molecular mechanisms underlying ciliopathies caused by a mutation of the ciliary gene have been revealed and candidate molecules, which are involved in the pathogenesis of ciliopathies, have been discovered. Those molecules could be the targets for the treatment of ciliopathies.

研究分野：発生生物学

キーワード：繊毛 TGF-beta 発生生物学 アフリカツメガエル

1. 研究開始当初の背景

繊毛はヒトのほぼ全ての細胞表面に存在するアンテナ状の小器官で、外部からのシグナルの細胞内への伝達や体内の水流(脳脊髄液など)の形成などに関わっている。繊毛の異常は脳形成異常、多発性嚢胞腎、網膜障害、眼瞼下垂様顔貌など多岐に渡る症状を引き起こし、総称して繊毛病と呼ばれている。繊毛の機能や形態形成に大きく関わっている intraflagellar transport (IFT) 複合体は繊毛内で必要とされる分子(カーゴ)を運搬し必要でなくなったタンパク質などを回収する役目を担っており、IFT トレインとも呼ばれる。我々の予備結果は、TGF-シグナルとその下流遺伝子 POC1B が IFT 複合体の構成分子の繊毛基底部での局在を制御し、正常な IFT 複合体の構築に必要とされることを示唆しているが、その機序は不明のままであった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、繊毛病の原因遺伝子 POC1B の繊毛に関する機能解明とその異常によって繊毛基底部に局在出来なくなった IFT 分子が運搬する分子の同定である。これらの結果から、TGF-シグナルが誘導する POC1B による IFT 複合体の構築機序が明らかになり、POC1B 遺伝子の変異で起こる繊毛病の一つであるジュベール症候群関連疾患(JSRD)の病態の解明に繋がる。

3. 研究の方法

本研究の目的を達成するために、以下の研究を行った。

- ツメガエル胚表皮多繊毛細胞(MCC)を用いて POC1B が基底小体付近でアクチン結合分子 CORO1A、中心体分子 SEP44 と複合体(PCS 複合体)を形成し、細胞頂側膜付近のアクチンネットワークの形成に重要な役割を果たしているかを確定する。
- POC1B 遺伝子の変異に起因する JSRD の病態を検証するため、JSRD 患者で変異が報告されている POC1B のミュータントを使って、PCS 複合体の構築状態やアクチンネットワークに及ぼす影響を精査する。
- 我々の予備結果では、TGF-シグナルと POC1B は IFT 分子(IFT121、IFT139)の繊毛基底部の局在に必要とされることが明らかになっている。本研究では IFT139 に注目し IFT139 に結合する分子を IP-MALDI/TOF 質量分析で決定し、それらの分子の繊毛での機能をツメガエル胚で検証する。

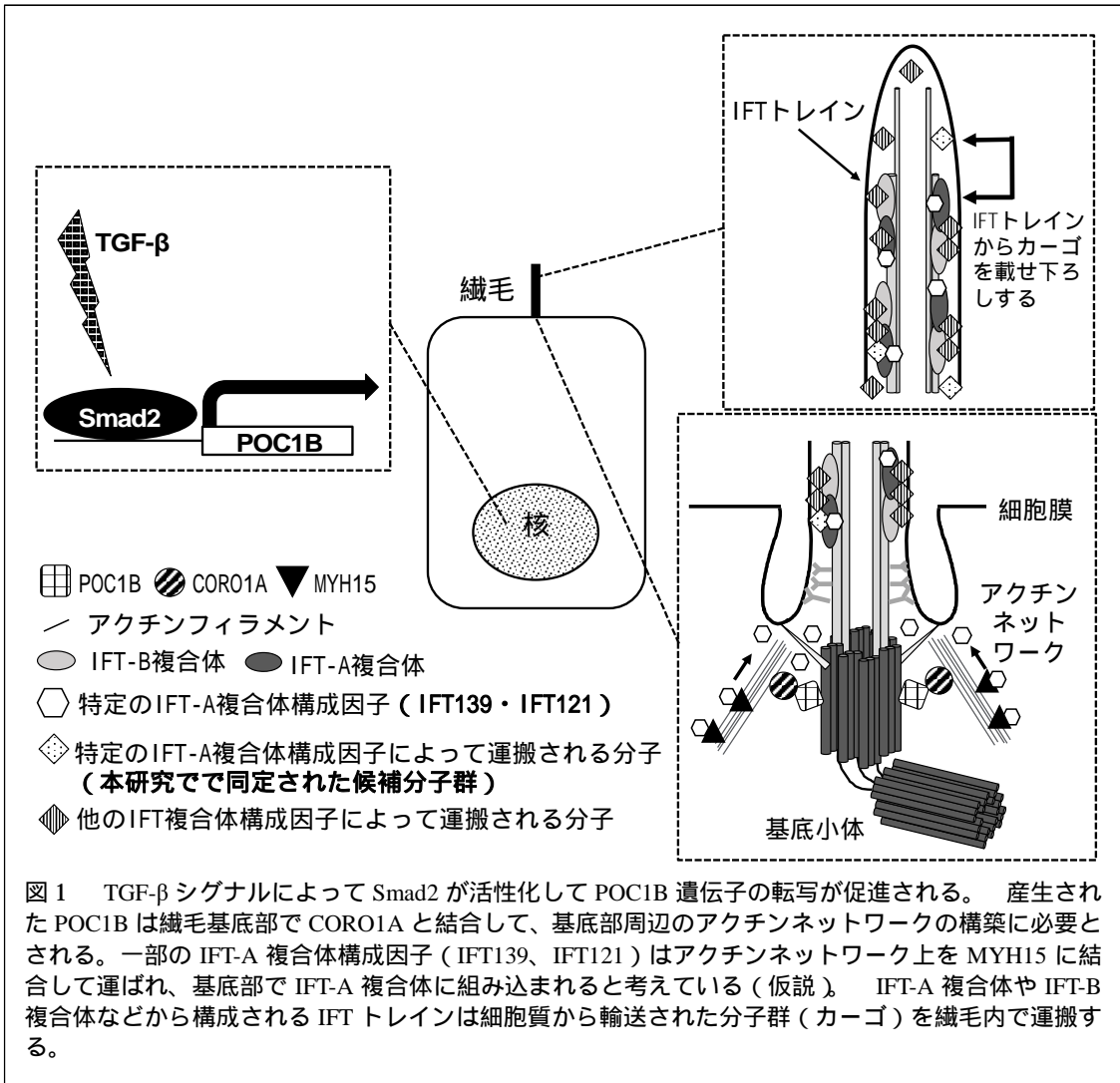
これらの結果から、繊毛形成時に細胞質から繊毛内へ輸送される分子群から TGF-シグナル/POC1B に依存している分子が判明することで POC1B 遺伝子変異によって引き起こされる繊毛病の病態を理解することができる。

4. 研究成果

我々がこれまで得てきた予備結果と本研究の成果を総合すると、POC1B 遺伝子の転写は TGF-シグナルによって直接制御され、繊毛の形成過程で TGF-シグナルの下流遺伝子として重要な役割を果たしている(図1)。POC1B がアクチン結合分子 CORO1A と結合し、繊毛周辺の細胞頂端部のアクチンネットワークの構築に重要であり、繊毛内で必要とされる分子群を運搬している IFT 複合体の一部の構成因子(IFT139 と IFT121)が繊毛基底部に集積して IFT 複合体に組み込まれるために必要とされることを示唆した(図1)。さらに少なくとも IFT139 は myosin heavy chain 15 (MYH15) と結合して、細胞頂端部に運搬されることを示唆するデータを得た。また、JSRD 患者の変異(106番目 R が P に変化)を持った POC1B は細胞の頂端部への局在ができなくなった。そのため、繊毛細胞の頂端部のアクチンネットワークが壊れ、IFT139 と IFT121 が欠損した IFT 複合体が繊毛内で運搬できない分子群が原因で異常繊毛と JSRD の症状を引き起こすと考えた。

次に IFT139 が運搬する繊毛関連分子群を同定し、それらの機能を同定することで、脳と腎などの形成における繊毛の役割を解明するために、IP-MALDI/TOF 質量分析によって IFT139 に結合する候補分子(CDK1、PCM1、acap2、phldb1、mzt2b)を同定した。現在、それぞれの分子の繊毛内での機能を解析している。

本研究では JSRD の一症例で発見された遺伝子の変異がどのように異常な繊毛を形成し、その異常な繊毛がどのように繊毛病の症状を引き起こすかという疑問を解決するために、外部からのシグナルが繊毛内でどのように細胞内へ伝達され、脳や腎などの臓器の形成を制御しているかを分子レベルで解明するための足がかりを得ることに成功した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤洋一
2. 発表標題 TGF-beta シグナルに制御される繊毛形成の機序の解明
3. 学会等名 繊毛研究会
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
--	---------------------------	-----------------------	----