

令和 6 年 4 月 15 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06633

研究課題名(和文)「シグナリングエンドソーム」による情報伝達分子基盤の解明

研究課題名(英文) Evaluation of molecular bases for signal transduction by "signaling endosomes"

研究代表者

堤 良平 (Tsutsumi, Ryouhei)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：50435872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：増殖因子受容体は細胞膜ではなく活性化に伴い生成されるエンドサイトーシス小胞を起点として情報伝達を惹起するとの「情報伝達小胞仮説」が唱えられているが、このような小胞の実態や機能は明らかではなかった。本研究では、簡便なエンドサイトーシス小胞の単離法を開発してその含有タンパク質を網羅的に同定し、同小胞上に多数の糖代謝関連酵素群が存在することを見出した。さらに増殖因子依存的な糖代謝亢進に同小胞-ミトコンドリア間相互作用が重要であり、細胞の生存に必須であることを明らかにした。これらは、これまでの「ブドウ糖は細胞膜を通して細胞内に移行し細胞質で代謝される」という教科書モデルを大きく更新するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で明らかにした現象は、増殖因子受容体の活性化や糖代謝の亢進が知られているがんなどの疾病への関与が示唆され、新たな治療法の開発への展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：In spite of the "signaling endosome hypothesis", in which growth factor receptors elicit signals from endocytic vesicles upon stimulation, components and functions of such vesicles has been unclear.

In this study, we developed a easy and rapid method to isolate such vesicles and found colocalizations of most glycolytic enzymes to these vesicles. Furthermore, we found that interaction between such vesicles and mitochondria plays a crucial role for growth factor-evoked enhancement of cellular glycolysis, which is necessary for cellular survival.

These result significantly renew the current textbook model of glycolysis, in which glucose is transported through the plasma membrane and catabolized in the cytoplasm.

研究分野：生化学

キーワード：増殖因子 受容体エンドサイトーシス 細胞内小胞 解糖系 情報伝達

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

細胞増殖因子により惹起される細胞内情報伝達制御の分子機構の解明は50年以上にわたり細胞生物学・生理学上の重要課題である。細胞表面に存在する上皮増殖因子(EGF)受容体や血小板由来増殖因子(PDGF)受容体などの増殖因子受容体(受容体型チロシンキナーゼ)は、リガンド刺激により活性化・自己リン酸化し、細胞内情報伝達を惹起するとともに、速やかに受容体の細胞質への陥入(エンドサイトーシス)によってエンドサイトーシス小胞を形成し細胞内に取込まれる。受容体の細胞質への取り込みと最終的な分解は細胞表面の受容体数を低減するネガティブフィードバックであると考えられてきたが、近年、多数の細胞膜受容体がエンドサイトーシス後に細胞内小胞を起点として情報伝達を惹起(あるいは維持)しているという「シグナリングエンドソーム」仮説が唱えられている。しかしながら、このような小胞がどのようなタンパク質で構成され、どのような情報伝達が行われているのか、さらには情報伝達以外の生物学的機能があるのか等はこれまでほとんど明らかにされていなかった。

一方、1970年代から増殖因子刺激により繊維芽細胞の糖代謝が急性に増加することが知られていたが、インスリン依存性のブドウ糖トランスポーター4(GLUT4)の細胞膜表面への移行や転写・翻訳による長期的な解糖系酵素群の発現量制御が注目されたこともあり、当初発見された現象は、これらでは説明が困難であるにも関わらず、詳細な機構は明らかにされていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では当初、1. 増殖因子受容体エンドサイトーシス小胞の生物学的意義の解明、2. 同小胞の構成タンパク質の網羅的同定と継時的定量、加えて、3. 同小胞を標的とするがん細胞増殖抑制の可能性の検討により、増殖因子受容体エンドサイトーシス小胞の包括的理解ならびに将来的な応用を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では、磁性ナノ粒子を用いた独自の手法により増殖因子刺激により生成するエンドサイトーシス小胞の単離法を確立し、質量分析により同小胞を構成するタンパク質を網羅的に同定した。さらに、得られた構成タンパク質群から特に解糖系に關与する一連の酵素群に着目し(後述)生化学的・細胞生物学的・メタボロミクス的手法を用いて、受容体エンドサイトーシス小胞による細胞の代謝への寄与を検討した。

### 4. 研究成果

本研究では以下の成果を得た。

1. 増殖因子受容体エンドサイトーシス小胞の機能解明のため磁性ナノ粒子を用いた簡便な単離法を新規に開発した。
2. 上記1で得られた標品のプロテオミクス解析から、同小胞がブドウ糖トランスポーター1(GLUT1)を含む多数の解糖系酵素を集積していることを強く示唆する結果を得た。
3. 免疫蛍光染色やproximity ligation assayによる解析等によって、細胞表面で機能しているとされるGLUT1が刺激依存的に増殖因子受容体とともにエンドサイトーシス小胞に取り込まれること、ならびに、エンドサイトーシス小胞がミトコンドリアの近傍に輸送されて当該箇所において解糖系酵素群のほとんどと共局在することを明らかにした。
4. 1970年代に報告された線維芽細胞における増殖因子刺激による細胞ブドウ糖代謝の急性の亢進が、既知の糖代謝制御機構ではなく、GLUT1ならびに受容体エンドサイトーシス小胞の生成とそのミトコンドリアへの細胞内輸送に依存していることを明らかにした。
5. 受容体エンドサイトーシス小胞が細胞外からミトコンドリアへのブドウ糖の輸送を担っていること、ならびに同現象が細胞の生存に必須であることを示した。
6. メタボローム解析等によって受容体エンドサイトーシス小胞が細胞の特に解糖系による代謝の恒常性維持や細胞の生存に必須であることを示した。

これまで、細胞のブドウ糖代謝は教科書的にも「ブドウ糖は細胞膜を通して細胞内に移行し細胞質で代謝される」と漠然と説明されてきた。本研究によって提示された新たな機構は、外部刺激によって生じる細胞内小胞とそのミトコンドリアへの輸送等が關与する動的な制御であり、教科書モデルを大きく更新するものとなった(次項図)。

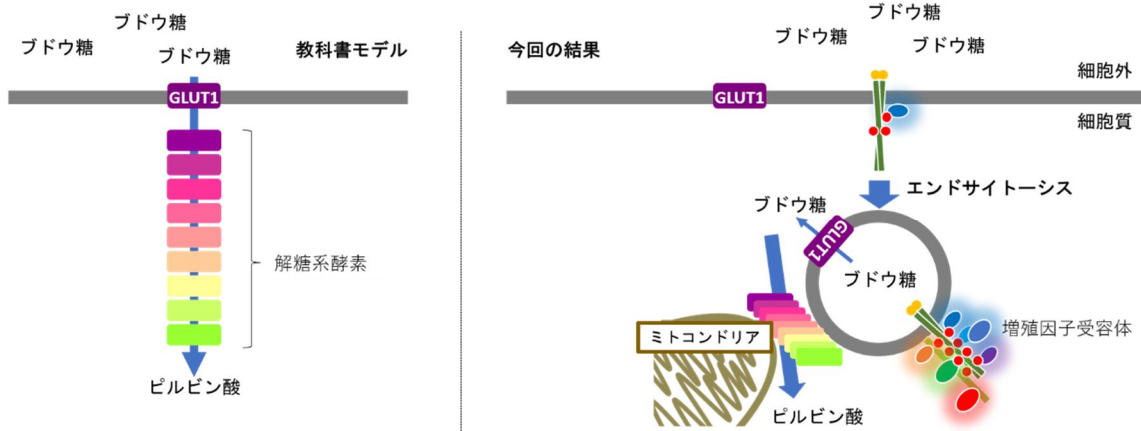


図 今回の研究結果の概要

以上の結果を国内学会にて発表し、また、学術論文として発表した (Tsutsumi R. et al, Nat Commun 15, 2843 (2024))。

増殖因子受容体の活性化や糖代謝の亢進が知られているがんなどの疾病への関与が示唆され、新たな治療法の開発への展開が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsutsumi Ryouhei, Ueberheide Beatrix, Liang Feng-Xia, Neel Benjamin G., Sakai Ryuichi, Saito Yoshiro	4. 巻 15
2. 論文標題 Endocytic vesicles act as vehicles for glucose uptake in response to growth factor stimulation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2843
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-024-46971-9	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 堤良平
2. 発表標題 増殖因子による細胞糖代謝制御の新たな分子基盤
3. 学会等名 第93回 日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堤良平
2. 発表標題 Spatio-temporal regulation of protein tyrosine phosphatases by reactive oxygen Species (ROS) and its pharmaceutical application
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堤良平、堺隆一、斎藤芳郎
2. 発表標題 増殖因子受容体エンドサイトーシスによる細胞ブドウ糖代謝制御
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023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			
米国	ニューヨーク大学医学部			