

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：14401
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21570224
 研究課題名（和文） 核一細胞質間輸送による胚発生の新たな制御機構の解明
 研究課題名（英文） Study for a novel mechanism of developmental regulation via nucleocytoplasmic transport
 研究代表者
 安原 徳子（YASUHARA NORIKO）
 大阪大学・医学系研究科・特任助教
 研究者番号：90423152

研究成果の概要（和文）：これまでの我々の研究から、核一細胞質間蛋白質輸送システムが、胚性幹細胞(ES細胞)の分化に重要な役割を果たすことが示唆された。本研究では、マウス胚発生過程での輸送因子の機能およびその発現制御のメカニズム解明をめざした。輸送因子のひとつである importin α が初期胚発生過程でそれぞれ特異的な発現パターンを示し、発生に何らかの役割を果たしている可能性を見出した。また、importin α ファミリー分子のひとつが分化に関する特定の転写因子の輸送を阻害することを見出した。これにより、importin α ファミリーが積荷分子の種類を識別して輸送を制御し、様々な細胞分化に関する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We have previously found that the nucleocytoplasmic transport system plays an important role for differentiation of mouse embryonic stem cells. The goal of this research is to investigate the role of transport receptors during embryogenesis. We found that transport receptor importin α family members were differentially expressed during mouse embryogenesis. We also found that one member of importin α family has a specific activity to inhibit the nuclear transport of certain transcription factor. Therefore, it is becoming clear that the nucleocytoplasmic transport machinery is involved in cell differentiation and organism development.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：細胞生物学

キーワード：核一細胞質間分子輸送、初期胚発生、importin α 、情報伝達制御

1. 研究開始当初の背景
 真核細胞では、核一細胞質間の情報伝達は

核膜上の核膜孔を介して行われる。核膜孔は自由に通過できる分子のサイズが制限さ

れており、大きな分子は選択的かつエネルギー依存的に輸送される（図1）。

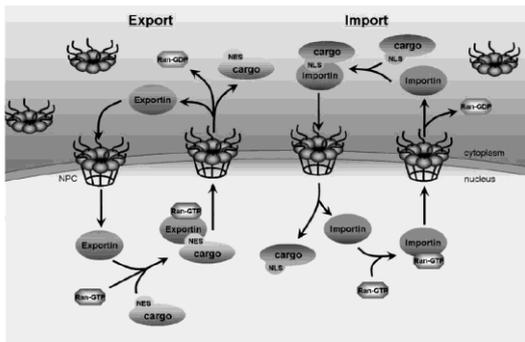


図1. 核—細胞質間分子輸送の概要

申請者のこれまでの研究から、核—細胞質間蛋白質輸送システムが、転写因子の輸送調節を通し、細胞分化に重要な役割を果たすことが示唆された。核へと運ばれる蛋白質の受容体である **importin α** は、哺乳類では **5-6** 種類のファミリー分子が存在し、成体の組織ごとに発現パターンが異なる。

マウス **ES** 細胞では **importin $\alpha 1$** が主に発現しているが、分化開始と共にその発現は低下し、**importin $\alpha 5$** など他の **importin α** ファミリー分子の発現が上昇する。このファミリー分子発現のバランスの変化は、**importin α** ファミリー分子の発現を人為的に操作すると **ES** 細胞の分化状態が変化することから、**ES** 細胞の分化に必須である。さらに、分化の過程で **importin α** ファミリー分子は、それぞれの基質特異性により特定の転写因子を輸送する（図2）。

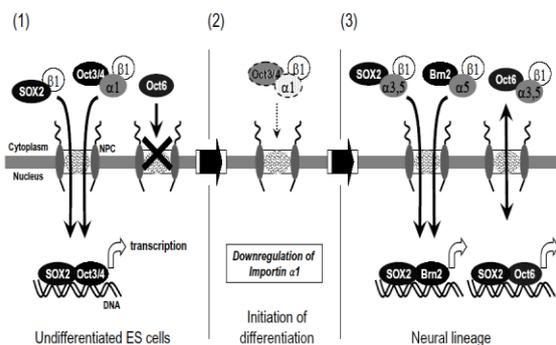


図2. **importin α** サブタイプによる転写因子の輸送制御

未分化 **ES** 細胞では **importin $\alpha 1$** が **Oct3/4** など、未分化性の維持に必要な転写因子を核へと効率よく輸送する。細胞が分化すると **importin $\alpha 1$** の発現量が低下し、このような輸送の効率が下がり、分化が促進すると考えられる。神経分化では、代わりに発現する **importin $\alpha 5$** や他の **importin α** ファミリー分子が **Bn2**、**Oct6**、**SOX2** など、分化にかかわる転写因子を効率よく核へと輸送し、これにより分化が進む。

また、新たに **importin $\alpha 1$** は分化を促進するような特定の転写因子の輸送を阻害することが明らかになった。血球系、筋肉などへの分化や精子形成の過程で **importin α** ファミリー分子の発現レベルが変化するという報告もあり、**importin α** ファミリーは細胞分化に広く関わっていることが伺える。では、胚発生において、**importin α** ファミリーはどのような役割を果たしているのだろうか？すでにショウジョウバエと線虫では、**importin α** ファミリーが胚発生に関わっていることが報告されている。しかし、哺乳類では全く明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、細胞の核—細胞質間蛋白質輸送システムによる胚発生の制御機構を明らかにする。具体的には、申請者がこれまでに胚性幹細胞（**ES** 細胞）を用いて細胞分化に深く関わることを明らかにした輸送受容体 **importin α** に焦点を絞り、マウス胚発生過程での機能およびその発現制御のメカニズムを解明する。これは初期胚発生の仕組みを核—細胞質間蛋白質輸送の観点から解明するこれまでにない試みであり、発見された新たな制御機構は **ES** 細胞を用いた臨床の現場や不妊治療などへの応用が期待される。

3. 研究の方法

本研究では、**importin α** ファミリーの発現バランスが胚発生のどの段階でインパクトを示すか、バランスの違いによりどのような反応系が動くか、どのようにしてバランスが制御されるか、を解析し、核—細胞質間蛋白質輸送システムを中心とした初期胚発生のネットワークを解明する。

4. 研究成果

これまでの我々の研究から、核—細胞質間蛋白質輸送システムが、胚性幹細胞（**ES** 細胞）の分化に重要な役割を果たすことが示唆された。**ES** 細胞では分化の段

階に応じて異なる輸送因子が発現し、特異的な転写因子を適切な時期に核へと輸送する。このような転写因子の輸送制御は細胞の運命決定に欠かせない。本研究では、マウス胚発生過程での輸送因子の機能およびその発現制御のメカニズムを解明する。

まず、輸送因子のひとつである importin α に焦点を絞り、マウス胚の発生過程での発現を解析した。結果、マウスでは5種類が存在する importin α ファミリーが初期胚発生過程でそれぞれ特異的な発現パターンを示すことが明らかになった。以上の結果より、importin α ファミリーがマウス胚の発生に何らかの役割を果たしている可能性が伺える。これに関しては、importin α ファミリーのノックアウトマウスを作製し、胚発生における importin α ファミリーの機能を詳細に解析することにした。

さらに importin α ファミリーの機能解析を行い、ファミリー分子のひとつが分化に関する特定の転写因子の輸送を阻害することを見出した。この阻害活性は、ファミリー分子に存在する新たな積荷タンパク質の結合領域に依存する。

また、ある種の転写因子のダイマー形成が特定のファミリー分子による輸送を促すことも明らかにした。転写因子 E47 は単独またはホモダイマー形成時には importin α /importin β により核へと輸送される。一方、転写因子 NeuroD1 は単独では importin β により核へと輸送される。しかし、E47 が NeuroD1 とヘテロダイマーを形成した場合には、importin α /importin β による輸送は受けず、他の importin β ファミリー分子により輸送される。

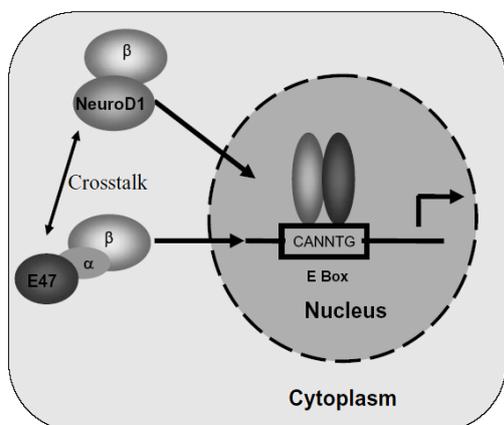


図3. Importin による HLH 蛋白質の輸送様式

以上から、importin α ファミリーが積荷分子の種類を識別して輸送を制御し、様々な細胞分化に関する可能性が示唆される。これらは、発生過程での importin α の機能や積荷蛋白質を解明するに当たり、重要な知見である。

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 3 件)

- ① Yasunao Kamikawa, Noriko Yasuhara, Yoshihiro Yoneda, Cell type-specific transcriptional regulation of the gene encoding importin- α 1, Experimental Cell Research, 査読有, 317 (2011), 1970-1978
<http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.05.024>
- ② Rashid Mehmood, Noriko Yasuhara, Masahiro Fukumoto, Souichi Oe, Taro Tachibana, Yoshihiro Yoneda, Cross-talk between distinct nuclear import pathways enables efficient nuclear import of E47 in conjunction with its partner transcription factors, Molecular Biology of Cell, 査読有, 19 (2011), 3715-3724
[doi:10.1091/mbc.E10-10-0809](https://doi.org/10.1091/mbc.E10-10-0809)
- ③ Jonathan Nardozzi, Nikola Wentz, Noriko Yasuhara, Uwe Vinkemeier and Gino Cingolani, Molecular Basis for the Recognition of Phosphorylated STAT1 by Importin α 5, Journal of Molecular Biology, 査読有, 402 (2010), 83-100
[doi:10.1016/j.jmb.2010.07.013](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2010.07.013)

[学会発表] (計 9 件)

- ① 安原徳子, The nucleocytoplasmic transport system regulates the stem cell differentiation, 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011.12.15, 神奈川 みなとみらい横浜
- ② Noriko Yasuhara, The role of nucleocytoplasmic transport in cell differentiation, 2011.11.8, エルサレム (イスラエル)
- ③ 安原徳子, 核-細胞質間蛋白質輸送システムによる転写制御機構, 第 10 回核

ダイナミクス研究会、2011.10.27、北海道 北広島

- ④ 安原徳子、核—細胞質間輸送と細胞分化、第11回日本蛋白質科学会年会（招待講演）、2011.6.9、大阪 国際会議場
- ⑤ 安原徳子、Controlling the cell fate by nucleocytoplasmic transport、International Symposium on the Physicochemical Field for Genetic Activities（招待講演）、2011.1.26、淡路島 夢舞台
- ⑥ 安原徳子、Nuclear import of E47 and its partner transcription factors involves a cross talk between distinct nuclear import pathways、日本分子生物学会、日本生化学会（合同年会）、2010.12.8、神戸 国際会議場
- ⑦ 安原徳子、核—細胞質間蛋白質輸送システムによる細胞運命決定機構、核ダイナミクス研究会、2010.5.29、静岡ラフォーレ修善寺
- ⑧ 安原徳子、核輸送因子による新たなES細胞の未分化維持機構、日本細胞生物学会、2010.5.19-20、大阪 国際会議場
- ⑨ 安原 徳子、The role of the nucleocytoplasmic transport system in cell differentiation、GCOE 国際会議、2010.4.12-13、大阪 千里ライフサイエンスセンター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安原 徳子 (YASUHARA NORIKO)
大阪大学・医学系研究科・特任助教
研究者番号：90423152

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：