

令和 6 年 5 月 20 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02696

研究課題名（和文）一次線毛によるシグナル制御と細胞増殖・分化

研究課題名（英文）Primary cilia-mediated signaling for cell growth and differentiation

研究代表者

稲垣 昌樹（Inagaki, Masaki）

三重大学・医学系研究科・客員教授

研究者番号：30183007

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：代表者が同定した一次線毛形成阻害因子トリコプレインのKOマウスは脂肪前駆細胞において、一次線毛伸長に作用することを見出しており、これによってインスリンAktシグナルが抑制的となった。本マウスは抗肥満作用があり、内臓脂肪の各種脂肪分化マーカー解析から白色脂肪がベージュ化することによって熱産生能が高まっていることが分かってきた。また、肝臓における異所性脂肪蓄積が抑制的であり、その解析も進めている。トリコプレインと拮抗する作用を持つKCTD17欠損マウスも作製し、一次線毛形成における反対作用があるか、肥満促進作用があるかの解析も進め、一次線毛形成と脂肪細胞分化の分子メカニズムが明らかとなってきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪前駆細胞において、一次線毛を伸長させるメカニズムの詳細を明確にすることで、細胞の分化をコントロールできるようになり、脂肪細胞量や脂肪量を調節することができるようになる。内臓脂肪や皮下脂肪では、直接脂肪前駆細胞の一次線毛が伸長して、細胞分化を制御していることが考えられるが、肝臓などの異所性脂肪蓄積には間接的な関与が考えられ、本研究の遂行は一次線毛を標的とした新たな治療法の創出に貢献できることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We have found that trichoplein (TCHP), a ciliogenesis inhibitor identified by us, affects primary cilia elongation in pre-adipocytes in TCHP KO mice, and this suppresses insulin-Akt signaling. TCHP KO mice have anti-obesity effect, and we analyzed various adipose differentiation markers in visceral fat. We revealed that white adipose tissue becomes beige adipose tissue increasing thermogenic ability. Furthermore, ectopic fat accumulation in the liver was suppressed, and we are currently analyzing this. We also generated KCTD17-deficient mice, which have an antagonistic effect on TCHP, and analyzed whether there is an opposite effect on primary cilia formation or an obesity-promoting effect, and the molecular mechanism of primary cilia formation and adipocyte differentiation was clarified.

研究分野：病態生理学

キーワード：一次線毛 脂肪前駆細胞 細胞分化 細胞増殖 脂質ラフト カベオラ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一次線毛は、細胞表面から伸びるアンテナ様の構造をした細胞小器官である。細胞外からの様々な刺激を感知する“センサー”としての役割と、その情報を細胞内へ伝達する“シグナルハブ”として役割を担うことが知られていたが、研究代表者は一次線毛の新しい機能として“細胞増殖停止”に働くことを報告してきた。

研究代表者は最近、一次線毛が“ラフト/カベオラの動態制御”を介して細胞増殖や脂肪細胞分化に関わる Akt シグナルを制御することを発見した。さらに、脂肪前駆細胞の一次線毛に形態異常を生じるモデルマウスを作製・解析したところ、脂肪細胞分化が阻害され、肥満抵抗性を呈することを明らかとしてきた。

2. 研究の目的

本研究では、脂肪前駆細胞における一次線毛が制御する細胞分化機構の詳細を明らかにし、肥満や癌の病態生理における一次線毛の役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

野生型マウス及びトリコブレイン欠損マウスを用いて、高脂肪食を食べさせることで、肥満誘導を実施した。また、脂肪前駆細胞は、培養細胞である C3H10T1/2 細胞やマウス由来組織から磁気ビーズ法を用いて Sca1 陽性細胞を選択的に回収し、培養したものを使用した。脂肪細胞分化誘導には、インスリン、デキサメタゾン、IBMX、インドメタシンを加えた induction 培地を使用し、その後インスリンのみ添加した maintenance 培地を使用した。

4. 研究成果

研究代表者が同定した一次線毛形成阻害因子トリコブレイン (TCHP) の KO マウスは脂肪前駆細胞において、一次線毛伸長に作用することを見出し、これによって脂肪細胞分化に必須のインスリン-PI3K/Akt シグナルが抑制的となった。

TCHP KO マウスの抗肥満作用

TCHP KO マウスは抗肥満作用があることから、内臓脂肪の各種脂肪分化マーカー解析を実施した。白色脂肪がベージュ化することによって熱産生能が高まっていることが分かってきた。また、肝臓における異所性脂肪蓄積が抑制的であり、その解析も進めている。トリコブレインとは拮抗する作用を持つ KCTD17 欠損マウスも作製し、一次線毛形成における反対の作用があるか、つまり肥満促進作用があるかどうかの解析も進め、一次線毛形成と脂肪細胞形成の一連の分子メカニズムの解明に貢献できると考えている。

一次線毛とカベオラ動態制御の分子機構

TCHP 欠損によって脂肪前駆細胞の一次線毛が伸長することを明らかにしている。脂肪細胞分化刺激は、一次線毛の根元に向け、コレステロールに富む微小ドメインである脂質ラフトやカベオラの構成タンパク質の蓄積を誘導することを明らかにしている。これがどのようなメカニズムを介して生じているかをアクチンフィラメントの配向をヒントに研究を実施した。脂質ラフト特にカベオラはアクチンフィラメントの裏打ちがあることで知られる。アクチンの重合阻害剤サイトカラシンを低濃度で作用させると一次線毛付近のアクチンフィラメントが脱重合するが、これによって一次線毛が伸長することを脂肪前駆細胞で確認した。TCHP のノックダウンでも同様に一次線毛付近のアクチンフィラメント配向が乱れることから、脂肪細胞分化刺激に応じた脂質ラフト構成タンパク質の移動はアクチンフィラメントが関わっていることが推測される。今後更なるアクチン関連分子レベルでの解析によって詳細を明らかにする必要がある。

一次線毛伸長と脂肪細胞分化

トリコブレイン依存的な一次線毛形成制御と脂肪細胞分化の関係は少しずつ明らかになってきた。しかし、トリコブレイン非依存的な一次線毛形成制御のメカニズムもあることが事実である。我々はトリコブレイン非依存的な一次線毛伸長効果も探索し、一次線毛伸長誘導と脂肪細胞分化抑制効果について、トリコブレイン欠損と同様のメカニズムが存在するかを調べている。既報を参考にし、脂肪前駆細胞以外の細胞では一次線毛形成を負に制御し、ノックダウンあるいはノックアウトすることによって一次線毛形成を促進するいくつかの遺伝子をピックアップし、脂肪前駆細胞を用いてノックダウンすることで一次線毛伸長効果があるかをまず調べた。6 遺伝子について検討したところ、2 遺伝子で一次線毛伸長効果

が見られた。これらに対してさらに脂肪細胞分化誘導を実施したところ、脂肪細胞分化も抑制できた。以上より、現段階では、トリコプレイン非依存的に一次線毛を伸長させても脂肪細胞分化を抑制できる共通メカニズムを明らかにできており、今後一次線毛への脂質ラフト移動や Akt シグナルの影響も共通しているかを明確にする実験を予定している。

TCHP を標的とした薬剤開発

TCHP は基底小体においてオーロラキナーゼ A との結合・活性化を介して、一次線毛の形成を抑制する。これまでに TCHP KO マウスでは高脂肪食による肥満誘導に対する抵抗性や、骨格筋損傷に対する修復応答亢進が認められること、これらのメカニズムに脂肪細胞分化刺激による脂肪前駆細胞の一次線毛基部への脂質ラフト集積と AKT リン酸化の抑制や、間葉系前駆細胞の一次線毛における IL-33 受容体を介した IL-13 発現亢進が関与することを明らかにしている。TCHP が関与する病態についてさらに研究を進めるため、本研究では TCHP を KO したゼブラフィッシュを用いてヒレ切断後の再生について解析した。その結果、TCHP を KO したゼブラフィッシュではヒレ切断後の再生が野生型に比べて亢進していることを見出した。TCHP を KO したゼブラフィッシュにおけるヒレ再生亢進メカニズムの解明を目的としてプロテオーム解析を行い、一次線毛に関連するシグナル変化を同定した。このシグナルとヒレ再生亢進との関連性を検証するため、抗体やトランスジェニックゼブラフィッシュの作製を行った。また、TCHP とオーロラキナーゼ A の結合を阻害する低分子化合物の探索を行い、現時点で 50 個程度のヒット化合物を見出している。今後、細胞レベルでの TCHP 機能阻害作用の検討を進めていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamakawa D, Tsuboi J, Kasahara K, Matsuda C, Nishimura Y, Kodama T, Katayama N, Watanabe M, Inagaki M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Cilia-Mediated Insulin/Akt and ST2/JNK Signaling Pathways Regulate the Recovery of Muscle Injury.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Adv Sci (Weinh).	6. 最初と最後の頁 e2202632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/advs.202202632.	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 Nishimura Yuhei, Yamakawa Daishi, Uchida Katsunori, Shiromizu Takashi, Watanabe Masatoshi, Inagaki Masaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Primary cilia and lipid raft dynamics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Open Biology	6. 最初と最後の頁 210130 ~ 210130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsob.210130	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 Kasahara Kousuke, Inagaki Masaki	4. 巻 31
2. 論文標題 Primary ciliary signaling: links with the cell cycle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Trends in Cell Biology	6. 最初と最後の頁 954 ~ 964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tcb.2021.07.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishimura Yuhei, Yamakawa Daishi, Shiromizu Takashi, Inagaki Masaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Aurora A and AKT Kinase Signaling Associated with Primary Cilia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 3602 ~ 3602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10123602	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9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 西村 有平、山川 大史、白水 崇、稲垣 昌樹
2. 発表標題 一次線毛は脂質ラフトの動態制御を介して脂肪細胞分化に関する
3. 学会等名 第51回日本心脈管作動物質学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白水 崇、山川 大史、稲垣 昌樹、西村 有平
2. 発表標題 ゼブラフィッシュヒレ再生における一次線毛の役割
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村 有平、山川 大史、白水 崇、渡邊 昌俊、稲垣 昌樹
2. 発表標題 組織修復における一次繊毛制御因子トリコプレインの新たな役割
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamakawa D, Tsuboi J, Kasahara K, Matsuda C, Nishimura Y, Kodama T, Katayama N, Watanabe M, Inagaki M.
2. 発表標題 Primary cilia regulate the recovery of muscle injury through insulin/Akt and ST2/JNK signaling pathways
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia Conference Cilia & Centrosomes (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Daishi Yamakawa, Kousuke Kasahara, Masatoshi Watanabe, Masaki Inagaki
2. 発表標題 Suppression of obesity and hepatic steatosis by modulating ciliogenesis
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笠原広介、山川大史、稲垣昌樹
2. 発表標題 ユビキチン修飾系による一次線毛動態制御と疾患治療
3. 学会等名 第25回日本がん分子標的治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笠原広介、山川大史、稲垣昌樹
2. 発表標題 一次繊毛による細胞増殖・分化制御と疾患
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuhei Nishimura, Daishi Yamakawa, Daisuke Katoh, Kousuke Kasahara, Takashi Shiromizu, Makoto Matsuyama, Chise Matsuda, Yumi Maeno, Masatoshi Watanabe, and Masaki Inagaki
2. 発表標題 Primary cilia regulate adipogenesis through lipid raft dynamics
3. 学会等名 The 23rd Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Shiromizu, Ryohei Shibata, Daishi Yamakawa, Masaki Inagaki and Yuhei Nishimura
2. 発表標題 An investigation of the role of primary cilia in the repairing process after brain injury
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 筋損傷時の筋再生を促進するための治療用インターロイキン13 (IL-13)	発明者 稲垣昌樹、山川大史、西村有平	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、P22002MIU特願2022-097615	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

三重大学大学院医学系研究科統合薬理学分野 https://www.medic.mie-u.ac.jp/organization/course/pharmacology/ 三重大学大学院医学系研究科分子生理学分野 https://www.medic.mie-u.ac.jp/organization/course/physiology/
--

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
研究分担者	西村 有平 (Nishimura Yuhei) (30303720)	三重大学・医学系研究科・教授 (14101)	
研究分担者	山川 大史 (Yamakawa Daishi) (20631097)	三重大学・医学系研究科・助教 (14101)	

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
---------	---------