

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：32203

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659403

研究課題名(和文)肝再生における細胞内情報伝達系の場形成でのTaxilinの役割と機能解析

研究課題名(英文)Role and function of taxilin in the complex formation of molecules related to intracellular signal transduction in a regenerating liver

研究代表者

白瀧 博通(Shirataki, Hiromichi)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：90249962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、小胞輸送関連分子であるTaxilinの視点から、細胞内情報伝達系関連分子群の細胞内配置の制御機構の解明を進め、1)再生肝でTaxilinが細胞増殖依存性に発現していること、2)Hela細胞でTaxilinが微小管に結合する何らかの細胞内小器官に局在すること、3)Taxilinがsorting nexin4(SNX4)を介してトランスフェリン受容体のリサイクリングに関与していることを明らかにした。これらのことから、肝再生においてTaxilinがトランスフェリン受容体と連動した細胞内情報伝達系の場形成に小胞輸送を介して関与している可能性が出てきた。

研究成果の概要(英文)：In this project, we attempted to reveal the mechanism by which taxilin, a molecule related to vesicle transport, regulates intracellular delivery of molecules related to intracellular signal transduction. We obtained the following results: 1) Taxilin was overexpressed in the regenerating liver after partial hepatectomy. 2) Taxilin was localized on some intracellular organelles connected to the microtubule in Hela cells. 3) Taxilin interacted with sorting nexin 4 and was implicated in the recycling of transferrin receptor. On the basis of these results, the possibility was raised that taxilin might be involved in the complex formation of molecules related to intracellular signal transduction that are connected with transferrin receptor through regulating intracellular vesicle transport.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科

キーワード：タキシリン 細胞内小胞輸送 トランスフェリン ソーティングネキシン 微小管 再生肝

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 肝実質細胞と肝非実質細胞の増殖と増殖細胞の移動による肝小葉構造の再構築が起こる肝再生は、細胞の増殖・運動に関与する細胞内情報伝達系の分子メカニズムを個体レベルで解明する最適なモデルと考えられている。一方、肝炎劇症化の一因が肝再生不良と考えられており、肝再生に関与する細胞内情報伝達系の分子メカニズムを解明することは臨床医学の重要な課題となっている。このような状況下、この数年の網羅的研究により、肝再生における細胞の増殖・運動に関与する数多くの分子群の発見とそれら分子群間の相互作用の解明が飛躍的に進んできた。しかし、細胞の増殖・運動では、細胞内の決められた場所に決められた時間にこれらの分子群が集積して相互作用することが重要と考えられており、細胞の増殖・運動に関与する細胞内情報伝達系の全体像の把握には、この分子群の部位特異的集積の分子メカニズムの解明が必須と考えられている。一方、申請者は、これまで細胞内小胞輸送関連分子である Rab 系と SNARE 系を切り口として物質的基盤に基づいて細胞内小胞輸送の分子メカニズムの解明を行っており、Rabphilin と  $\alpha$ -Taxilin を世界で最初に発見して命名しているが、最近、東京大学消化器内科の富谷博士グループとの共同研究により、 $\alpha$ -Taxilin の発現量が肝細胞癌においてがん細胞の分化度と正の相関を示すことを見出しており、 $\alpha$ -Taxilin が細胞内小胞輸送により細胞の増殖・運動に関与する分子群の部位特異的集積を制御している可能性が高くなっている。

### 2. 研究の目的

(1) 細胞の増殖・運動に関与する分子群の部位特異的集積における  $\alpha$ -Taxilin の機能を解明するために、まず、 $\alpha$ -Taxilin の細胞内局在を解析して  $\alpha$ -Taxilin が輸送する細胞内小器官の同定を行う。

(2) その結果に基づいて、肝再生における細胞増殖と肝小葉構造の構築における  $\alpha$ -Taxilin とその結合分子の動態ならびに機能を解析する。最後に、 $\alpha$ -Taxilin とその結合分子の遺伝子改変マウスを用いて肝再生の分子メカニズムの解明を行う。

### 3. 研究の方法

(1) ほとんどの細胞現象は基本的には蛋白-蛋白間相互作用によって制御されていることから、 $\alpha$ -Taxilin が関与する細胞機能の糸口を得るために、まず  $\alpha$ -Taxilin 結合分子の同定を行う。

(2) 細胞内での  $\alpha$ -Taxilin の役割を明らかにするために、 $\alpha$ -Taxilin の細胞内分布を生化学的・形態学的に解析する。

(3) マウスの再生肝における  $\alpha$ -Taxilin

の動態を解析する。

(4)  $\alpha$ -Taxilin が関与する細胞内情報伝達系の場形成における役割を検討する。

(5) マウス各臓器における  $\alpha$ -Taxilin の組織分布を検討し、肝再生に及ぼす肝外因子への  $\alpha$ -Taxilin の関与を検討する。

(6)  $\alpha$ -Taxilin ノックアウトマウスにおける肝再生を野生型マウスと比較検討する。

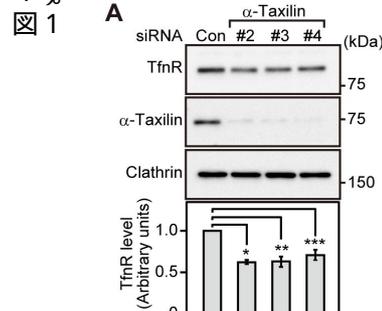
### 4. 研究成果

(1) チュブリンが、 $\alpha$ -Taxilin の新たな結合分子であることが明らかになった。 $\alpha$ -Taxilin は、重合チュブリンに結合したがチュブリンモノマーには結合しなかった。

(2)  $\alpha$ -Taxilin は、Hela 細胞において表在性蛋白質として何らかの細胞内小器官に局在していた。 $\alpha$ -Taxilin 局在小器官の細胞内分布は、小胞体やゴルジ体、ライソゾームの細胞内分布とは異なっていた。 $\alpha$ -Taxilin は、 $\alpha$ -Taxilin 局在小器官と微小管との間のリンカーとして機能している可能性が出てきた。

(3)  $\alpha$ -Taxilin は、ラット肝部分切除後の再生肝において zone1 から zone3 へと門脈域から肝静脈域へと徐々に肝細胞での発現亢進を認めたと、マウス肝部分切除後の再生肝では、肝組織全体での生化学的な発現量の緩徐な亢進を認めるのみであった。

(4) ソーティングネキシン 4 が、 $\alpha$ -Taxilin の新たな結合分子であることが明らかになった。ソーティングネキシン 4 は、トランスフェリン受容体の細胞膜へのリサイクリングに関与していることが明らかになっているが、 $\alpha$ -Taxilin も同様にトランスフェリン受容体の細胞膜へのリサイクリングに関与していた。 $\alpha$ -Taxilin の発現抑制によりトランスフェリン受容体のリサイクリングが抑制され、その結果、細胞内の総トランスフェリン受容体の発現量が低下した(図 1)。



(5) 個体レベルで  $\alpha$ -Taxilin の機能を解析する上で、まずマウスにおける  $\alpha$ -Taxilin の組織分布について検討したところ、増殖マーカーである Ki-67 陽性細胞に  $\alpha$ -Taxilin が特異的に発現していた。特に、小腸のように盛んに上皮細胞のリニューアルが起こっている組織では、 $\alpha$ -Taxilin の発現が顕著であった。

図 2

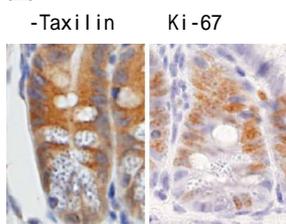
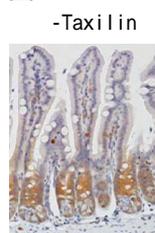


図 3



しかし、分化後に Ki-67 が陰性化した小腸上皮細胞では、-Taxilin の発現は消失していた (図 3)。

(6)

-Taxilin ノックアウトマウスにおける部分肝切除後の肝再生の動態を野生型マウスと比較検討したところ、-Taxilin 欠損は肝再生にほとんど影響を与えなかった。

## 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 5 件)

Sakane H., Horii Y., Nogami S., Kawano Y., Kaneko-Kawano T., and Shirataki, H.,

-Taxilin interacts with soring nexin 4 and participates in the recycling pathway of transferrin receptor., *PLoS ONE*, 査読有、9 巻、2014

DOI: 10.1371/journal.pone.0093509

Horii Y., Sakane H., Nogami S., Ohtomo N., Tomiya T., and Shirataki H., Expression of -taxilin in the murine gastrointestinal tract: potential implication in cell proliferation., *Histochem. Cell Biol.*, 査読有、141 巻、2014、165-180

DOI: 10.1007/s00418-013-1147-0

Horii Y., Nogami S., Kawano Y., Kaneko-Kawano K., Ohtomo N., Tomiya T., and Shirataki H., Interaction of -taxilin localized on intracellular components with the microtubule cytoskeleton., *Cell Struc. Func.*, 査読有、37 巻、2012、111-126  
<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/csf>

Furuya N., Kamai T., Shirataki H., Yanai Y., Fukuda T., Nakamura F., Kambara T., Nakanishi K., Abe H., and Yoshida

K., Serum interferon alpha receptor2 mRNA may predict efficacy of interferon alpha with/without low-dose sorafenib for metastatic clear renal cell carcinoma., *Cancer Immunol. Immunother.*, 査読有、60 巻、2011、793-808

DOI: 10.1007/s00262-011-0989-3

Mashidori T., Shirataki H., Kamai T., Nakamura F., Abe H., Honda M., Yamanishi T., and Yoshida K., Overexpression of -taxilin is associated with the metastatic potential in renal cell cancer., *Biolmed. Res.*, 査読有、32 巻、2011、103-110  
<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/bio-medres>

[学会発表](計 6 件)

西川尚子、富谷智明、大友夏子、井上有希子、池田均、白瀧博通、小池和彦、肝星細胞におけるコラーゲン産生に対する IGF-1 の直接作用、第 48 回日本肝臓学会総会、オープンワークショップ 38「肝線維化」、金沢、(2012 年 6 月 7 日～8 日)

西川尚子、富谷智明、大友夏子、西川尚子、井上有希子、池田均、白瀧博通、小池和彦、肝星細胞の増殖とコラーゲン産生に対する IGF-1 の影響に関する検討、第 19 回肝細胞研究会、札幌、(2012 年 6 月 29 日～30 日)

Takako Nishikawa, Tomoaki Tomiya, Natsuko Ohtomo, Yukiko Inoue, Hitoshi Ikeda, Hirromichi Shirataki, and Kzuhiro Koike, Insulin-like growth factor 1 reduces collagen production by hepatic stellate cells even when their proliferative activity is stimulated., *Asian Pacific Association for the study of the liver, Taipei*, (2012 年 2 月 16 日～19 日)

Takako Nishikawa, Tomoaki Tomiya,

Natsuko Ohtomo、 Yukiko Inoue、 Hitoshi Ikeda、 Hiromichi Shirataki、 and Kazuhiko Koike、 Reduction of collagen production by insulin-like growth factor I is independent of modulation of activation state in hepatic stellate cells.、 The 61<sup>th</sup> annual meeting of the American association for the study for the liver、 Boston、 ( 2012年11月9日～11月13日)

西川尚子、富谷智明、大友夏子、井上有希子、池田均、白瀧博通、小池和彦、IGF-I reduces collagen production through induction of collagen degradation via mTOR dependent signaling pathway、第20回肝細胞研究会、大阪、(2013年9月26日～27日)

西川尚子、富谷智明、大友夏子、井上有希子、池田均、白瀧博通、小池和彦、肝星細胞コラーゲン産生に対するIGF-Iの調節作用およびその機序の検討、JDDW2013(第21回日本消化器関連学会週間、第17回日本肝臓学会大会、東京、(2013年10月9日～12日)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.dokkyomed.ac.jp/dep-m/mol-ce>

[ll-bio/index.html](http://ll-bio/index.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

白瀧 博通 (SHIRATAKI Hiromichi)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：90249962

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：