

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 13 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790256

研究課題名(和文) グリア細胞を介した浸透圧制御の分子的基盤の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms underlying the glia-mediated osmo-regulation

研究代表者

中台 枝里子(鹿毛枝里子)(KAGE-NADAKAI, Eriko)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：40453790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：線虫のイノシトール輸送担体(HMIT)をコードする3つの遺伝子(hmit-1.1, hmit-1.2, hmit-1.3)について発現解析および欠損変異体作製を行った。その結果、hmit-1.2およびhmit-1.3が線虫のグリア細胞に発現すること、hmit-1.2のみが高浸透圧条件下において著明な発現誘導を示すことを明らかにした。またhmit-1.2ノックアウト線虫が体液の高浸透圧負荷に脆弱であることを見出した。以上の結果から、グリア細胞のイノシトール輸送担体(hmit-1.2)が浸透圧に反応して発現誘導されること、それが個体としての浸透圧制御に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We characterized three *Caenorhabditis elegans* HMIT genes, hmit-1.1, hmit-1.2, and hmit-1.3. hmit-1.1 was expressed in the intestine, and hmit-1.2 was expressed in the glia and the excretory canal, which is an osmotic regulatory organ that is functionally analogous to the kidney. hmit-1.3 was expressed in the intestine and the glia. The expression of hmit-1.1 and hmit-1.2 but not hmit-1.3, was markedly induced under hyperosmotic conditions. Animals with mutant hmit-1.1 and hmit-1.2 were hypersensitive to osmotic stress. The defects of hmit-1.1 and hmit-1.2 mutants were rescued by hmit-1.1 and hmit-1.2 trans genes, respectively, and by modified human HMIT. In human cell lines, HMIT expression was induced in hyperosmotic conditions. These findings indicate that the *C. elegans* HMIT family has a crucial role in the osmotic protective response.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：浸透圧 グリア細胞 線虫

1. 研究開始当初の背景

近年、浸透圧応答における脳グリア細胞の役割が脚光を浴びつつある。グリア細胞に発現するイノシトール輸送担体は高浸透圧負荷によって誘導されることが分かっており、そのため浸透圧ストレスの指標に用いられる。これまで主に生理学的手法により、浸透圧調節におけるグリア細胞の役割について数々の重要な知見が得られてきた。一方でそれを担う分子メカニズムについては不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

本研究は、グリア細胞を介した浸透圧応答の分子的基盤を明らかにすることを目的とする。具体的には、グリア細胞の浸透圧応答性イノシトール輸送担体の挙動を指標にし、グリア細胞内、あるいはニューロン/グリア間シグナル分子群に着目して研究を行う。

3. 研究の方法

HMIT 発現を浸透圧応答の指標とし、まず線虫モデルを用いて 1) 浸透圧応答を担うグリア細胞内シグナル候補分子の同定を行い、次に 2) ニューロンからグリア細胞への細胞間シグナルの候補分子の同定を行う。

4. 研究成果

線虫のイノシトール輸送担体(HMIT)をコードする3つの遺伝子 (*hmit-1.1*, *hmit-1.2*, *hmit-1.3*) について発現解析および欠損変異体作製を行った。その結果、*hmit-1.2* および *hmit-1.3* が線虫のグリア細胞に発現すること、*hmit-1.2* のみが高浸透圧条件下において著明な発現誘導を示すことを明らかにした。このグリア細胞は、まさに線虫の浸透圧受容ニューロン(ASH ニューロン)を覆うグリア(amphid sheath glia)であった。また、各欠損変異体の表現型解析から、*hmit-1.2* ノックアウト線虫が体液の高浸透圧負荷に脆弱であることを見出した。以上の結果から、線虫においても哺乳類と同様に、グリア細胞のイノシトール輸送担体(*hmit-1.2*)が浸透圧に応答して発現誘導されること、それが個体としての浸透圧制御に重要な役割を果たすことが明らかとなった。次に *hmit-1.2* 遺伝子の発現を制御する遺伝子を RNAi スクリーニングにより探索した。その結果、ショウジョウバエ *prospero* / 哺乳類 *prox1* の線虫ホモログである *ceh-26* 遺伝子を同定した。*prospero* はショウジョウバエにおいてグリア細胞の発生に必須な転写因子であり、*prox1* は血管/リンパ管内皮細胞の運命決定に関わることが知られている。そこでまず、*vha-8p::gfp* トランスジェニック線虫 (*vha-8* 遺伝子はグリア選択的に発現し、かつ *CEH-26* による転写制御を受けない) を用いてグリア細胞を可視化し、形態観察を行った。しかし *ceh-26* ノックダウンによる顕著な形態異常はみとめられなかった。一方で、高浸透圧受容による忌避行動が顕著に低下することを見出した。*ceh-26* はグリア細胞選択的に発現し、浸透圧受容ニューロンには発現しないこ

とから、グリア細胞が浸透圧受容ニューロンの発生、機能に必須な役割を果たすと考えられる。またグリア細胞そのものの形態に異常はみとめられないことから、単なる支持構造としてではなく、何らかのシグナル分子(膜タンパク質や分泌因子など)を介して浸透圧受容ニューロンの発生、機能を制御する可能性が高いと考えられる。

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13件)

- 1) Kage-Nakadai E, Imae R, Yoshina S, Mitani S. Methods for single/low-copy integration by ultraviolet and trimethylpsoralen treatment in *Caenorhabditis elegans*. *Methods* 2014 Mar 12. [Epub ahead of print]
- 2) Xie C, Miyasaka T, Yoshimura S, Hatsuta H, Yoshina S, Kage-Nakadai E, Mitani S, Murayama S, Ihara Y. The homologous carboxyl-terminal domains of microtubule-associated protein 2 and TAU induce neuronal dysfunction and have differential fates in the evolution of neurofibrillary tangles. *PLoS One* 9, e89796, 2014
- 3) Yaguchi Y, Komura T, Kashima N, Tamura M, Kage-Nakadai E, Saeki S, Terao K, Nishikawa Y. Influence of oral supplementation with sesamin on longevity of *Caenorhabditis elegans* and the host defense. *Eur J Nutr.* 2014 Feb 19. [Epub ahead of print]
- 4) Ohba Y, Sakuragi T, Kage-Nakadai E, Tomioka NH, Kono N, Imae R, Inoue A, Aoki J, Ishihara N, Inoue T, Mitani S, Arai H. Mitochondria-type GPAT is required for mitochondrial fusion. *EMBO Journal* 32, 1265-1279, 2013
- 5) C. elegans Deletion Mutant Consortium. large-scale screening for targeted knockouts in the *Caenorhabditis elegans* genome. *G3 (Bethesda)* 2, 1415-1425, 2012 (申請者を含むコンソーシアム構成員による共著)
- 6) Hagiwara K, Nagamori S, Umemura YM, Ohgaki R, Tanaka H, Murata D, Nakagomi S, Nomura KH, Kage-Nakadai E, Mitani S, Nomura K, Kanai Y. NRFL-1, the *C. elegans* NHERF orthologue, interacts with amino acid transporter 6 (AAT-6) for age-dependent maintenance of AAT-6 on the membrane. *PLoS One* 7, e43050, 2012
- 7) Lee HC, Kubo T, Kono N, Kage-Nakadai E, Gengyo-Ando K, Mitani S, Inoue T, Arai H. Depletion of *mboa-7*, an enzyme that incorporates polyunsaturated fatty

acids into phosphatidylinositol (PI), impairs PI 3-phosphate signaling in *Caenorhabditis elegans*. **Genes to Cells** **17**, 748-757, 2012

- 8) Zhang Y, Wang H, Kage-Nakadai E, Mitani S, Wang X. *C. elegans* secreted lipid-binding protein NRF-5 mediates PS appearance on phagocytes for cell corpse engulfment. **Current Biology** **22**, 1276-1284, 2012
- 9) Nawa M*, Kage-Nakadai E*, Aiso S, Okamoto K, Mitani S, Matsuoka M. Reduced expression of BTBD10, an Akt activator, leads to motor neuron death. **Cell Death & Differentiation** **19**, 1398-1407, 2012 *These authors contributed equally to this work.
- 10) Murata D, Nomura KH, Dejima K, Mizuguchi S, Kawasaki N, Matsuishi-Nakajima Y, Ito S, Gengyo-Ando K, Kage-Nakadai E, Mitani S, Nomura K. GPI-anchor synthesis is indispensable for the germline development of the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Molecular Biology of the Cell** **23**, 982-995, 2012
- 11) Kage-Nakadai E, Kobuna H, Funatsu O, Otori M, Gengyo-Ando K, Yoshina S, Hori S, Mitani S. Single/low-copy integration of transgenes in *Caenorhabditis elegans* using an ultraviolet trimethylpsoralen method. **BMC Biotechnology** **12**, 1, 2012
- 12) Kage-Nakadai E, Uehara T, Mitani S. H⁺/myo-inositol transporter genes, *hmit-1.1* and *hmit-1.2*, have roles in the osmoprotective response in *Caenorhabditis elegans*. **Biochemical Biophysical Research Communications** **410**, 471-477, 2011
- 13) Nomura, K.H., Murata, D., Hayashi, Y., Dejima, K., Mizuguchi, S., Kage-Nakadai, E., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., Hirabayashi, Y., Ito, M., Nomura, K. Ceramide glucosyltransferase of the nematode *Caenorhabditis elegans* is involved in oocyte formation and in early embryonic cell division. **Glycobiology** **21**, 834-848, 2011

〔学会発表〕(計5件)

- 1) A conditional knockout system based on the single/low-copy integration of transgenes in *C. elegans*. Kage-Nakadai E, Imae R, Funatsu O, Hori S, Suehiro Y, Yoshina S, Mitani. 19th International C.elegans meeting. Poster, 2013年6月 LA, USA
- 2) Single / low-copy integration of

transgenes by UV/TMP methods. Kage-Nakadai E, Imae R, Funatsu O, Hori S, Suehiro Y, Yoshina S, Mitani. 5th East Asia C.elegans meeting. Poster, 2012年6月 Taipei, Taiwan

- 3) Low-copy integration of transgenes by TMP/UV methods. Kage-Nakadai E, Kobuna H, Funatsu O, Otori M, Gengyo-Ando K, Yoshina S, Hori S, Mitani 18th International C.elegans meeting. Poster, 2011年6月 LA, USA
- 4) 線虫*C. elegans*におけるグリア運命決定因子 prospero/prox1 の役割, 中台枝里子, 三谷昌平 第34回日本神経科学大会、口演, 2011年9月 横浜
- 5) 線虫*C. elegans*における H⁺/myo-イノシトールトランスポートの浸透圧応答への関与、中台枝里子、三谷昌平 第88回日本生理学会、シンポジウム、2011年3月 盛岡

〔図書〕(計2件)

- 1) Kage-Nakadai, E., Mitani, S. Developmental Genetics of *Caenorhabditis elegans*. In: Maloy, S. and Hughes, K. (eds.) Brenner's Encyclopedia of Genetics, 2nd edn. vol 2., pp308-310. London: Academic press. 2013. ISBN: 978-0123749840
- 2) 中台-鹿毛枝里子、三谷昌平 第3節哺乳類以外のモデル動物第4項-線虫-モデル動物利用マニュアル<生物機能モデルの作製/新しいリソース・リサーチツール> 小幡裕一、城石俊彦、芹川忠夫、田中啓二、米川博通編集 エル・アイ・シー出版 2011年 ISBN: 978-4900487482

〔産業財産権〕

出願状況(計0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0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

6. 研究組織

(1)研究代表者

中台（鹿毛） 枝里子（KAGE-NAKADAI.
Eriko）

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：40453790

(2)研究分担者

該当無し ()

研究者番号：

(3)連携研究者

該当無し ()

研究者番号：