

令和 7 年 6 月 15 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2023～2024

課題番号：23K16178

研究課題名（和文）細胞外圧環境を融合した新規リプログラミング法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel reprogramming method incorporating extracellular pressure environment

研究代表者

杉本 明日菜（Sugimoto, Asuna）

東京科学大学・東京科学大学病院・助教

研究者番号：80823830

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、PIEZ01の下流のシグナル機構についての分析を行うため、骨髄由来間葉系幹細胞を用いて細胞外圧環境が与える影響を解析した。PIEZ01によるカルシウムイオン流入およびERKリン酸化に着目した結果、細胞外Caカルシウムの流入がPIEZ01の活性化によるERK活性化に重要であり、さらにPIEZ01のR-Ras結合領域がこのシグナルに関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞外圧負荷による細胞の分化誘導技術とダイレクトリプログラミングの技術を融合させることで、新たな分化誘導法が開発できる。本研究での研究成果は、PIEZ01の分子機構を応用した分化誘導法の開発の基盤となりうる。

研究成果の概要（英文）：In this study, to analyze the downstream signaling mechanisms of PIEZ01, we investigated the effects of extracellular pressure on bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Focusing on PIEZ01-mediated calcium ion influx and ERK phosphorylation, we found that the influx of extracellular calcium is critical for ERK activation upon PIEZ01 activation. Furthermore, it was suggested that the R-Ras-binding domain of PIEZ01 is involved in this signaling pathway.

研究分野：小児歯科

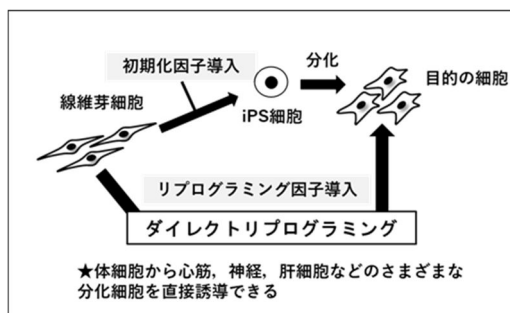
キーワード：PIEZ01 メカノセンシティブイオンチャネル メカニカルストレス 間葉系幹細胞 線維芽細胞

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19 , F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、線維芽細胞にリプログラミング因子を導入することで、多能性幹細胞を経ずに、目的の細胞に直接分化誘導する技術である「ダイレクトリプログラミング」技術が開発され、基礎研究、創薬、さらには再生医療において、新たな潮流として注目されている。この技術では線維芽細胞を目的の細胞に直接分化することができるため、時間の短縮、コストの軽減が可能であり、さらに成熟度の高い細胞を得ることができるという利点を持つ。さらに線維芽細胞は、人体の結合組織を構成する最も主要な細胞であり、生体内に豊富に存在しているため、この線維芽細胞を再生医療の細胞ソースとして利用できれば、今後の再生医療の高まる需要に十分応えることが期待できる。われわれは、これまで、細胞を取り巻く細胞外圧が幹細胞の分化運命にもたらす影響について研究を行っており、細胞外圧が幹細胞の分化誘導促進に働くこと、さらにその分子メカニズムを明らかにしてきた。そのため、細胞外圧負荷による細胞の分化誘導技術とダイレクトリプログラミングの技術を融合させることで、新たな分化誘導法の開発が期待できると考え、本研究を計画した。



2. 研究の目的

これまで、われわれは、骨の形成、維持に重要な細胞外圧環境に注目し、先行する研究において、細胞外圧負荷により間葉系幹細胞の骨芽細胞系細胞への分化を促進する分子メカニズムの解明を行ってきた。このメカニズムには、細胞の圧受容体との関連が深く、とくに侵害刺激に対する受容体である PIEZO1 を中心に解析を進めてきた。

本研究期間においては、細胞外圧環境がダイレクトリプログラミングに果たす役割についての解析をすすめるにあたり、PIEZO1 活性化時のシグナル分子活性について、より詳細な細胞シグナル伝達を明らかにするために、骨髄由来間葉系幹細胞を用いて、カルシウムイオンの流入と ERK のリン酸化について解析を行った。

3. 研究の方法

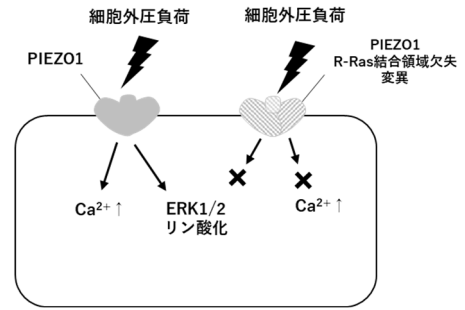
1) PIEZO1 活性化における細胞内のカルシウムイオンの動態について Fluo-4AM を用いての解析を行った。さらに、PIEZO1 によって活性化される細胞シグナルである ERK について、カルシウムイオンとの関連を検討した。

2) HEK293 細胞を用いてマウス Piezo1 全長の過剰発現細胞および Piezo1 の C 末の R-Ras 結合領域 欠失細胞株を作成し、Yoda1 による細胞内カルシウムイオンの動態について Fluo4 AM により解析を行った。さらに Yoda1 活性化による ERK のリン酸化について R-Ras 結合領域との関連について検討した。

4. 研究成果

PIEZO1 活性化剤により細胞内カルシウム濃度の上昇および ERK のリン酸化が誘導されたが、細胞外カルシウムを除去した条件下では ERK のリン酸化は起こらなかったことから、PIEZO1 による ERK 活性化には細胞外からのカルシウム流入が不可欠であることが示された。さらに、HEK293 細胞において PIEZO1 の R-Ras 結合領域を欠失させた変異体を用いた実験では、PIEZO1 活性化に伴うカルシウム流入および ERK リン酸化が抑制されたことから、この R-Ras 結合領域が PIEZO1 の下流シグナル伝達において重要な役割を果たすことが示唆された。(Sugimoto A, et al., C-terminus of PIEZO1 governs Ca²⁺ influx and intracellular ERK1/2 signaling pathway in mechanotransduction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2023)

これらの研究成果は,PIEZO1 の分子機構を応用した分化誘導法の開発の基盤となりうると考えられた。



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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sugimoto Asuna, Iwata Kokoro, Kurogoushi Rika, Tanaka Manami, Nakashima Yumiko, Yamakawa Yoshihito, Oishi Atsushi, Yoshizaki Keigo, Fukumoto Satoshi, Yamamoto Akihito, Ishimaru Naozumi, Iwamoto Tsutomu	4. 巻 682
2. 論文標題 C-terminus of PIEZO1 governs Ca ²⁺ influx and intracellular ERK1/2 signaling pathway in mechanotransduction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 39 ~ 45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2023.09.080	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0件

〔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
---------	---------