

令和元年5月30日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2014～2018

課題番号：26221101

研究課題名(和文) 寿命と発生を制御するシグナル伝達ネットワーク

研究課題名(英文) Signal transduction networks regulating life span and development

研究代表者

西田 栄介(Nishida, Eisuke)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・センター長

研究者番号：60143369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 150,000,000円

研究成果の概要(和文)：線虫において、外因性ストレスによる寿命延長等の獲得形質が次世代に継承されることを見出し、その分子機構を明らかにした。さらに、飢餓ストレスによる寿命延長に關する因子を複数見出した。また、アフリカツメガエル初期胚において、繊毛細胞分化を制御するシグナル伝達経路を見出した。生きたマウスの腸上皮に遺伝子を導入する方法を開発し、Hippo経路が幹細胞・前駆細胞の増殖と杯細胞への分化の双方を制御することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外因性ストレスによる寿命延長等の獲得形質の次世代への継承は、線虫のみならず動物一般の生存戦略のひとつである可能性が考えられ、そのメカニズムの解明は意義深い。また、ヒト生理機能にも必須となる繊毛細胞の発生に關する、一連のシグナル伝達経路を明らかにすることができた。さらに、我々が開発したマウス腸上皮に遺伝子を導入する方法は、スイス連邦工科大学ローザンヌ校との共同研究に発展するなど、国際的な注目を集めた。

研究成果の概要(英文)：Using *C. elegans*, we identified molecular mechanisms underlying the transgenerational inheritance of acquired traits such as stress-induced longevity. We also identified several signaling pathways regulating diet restriction-induced longevity. Moreover, using *Xenopus* embryos, we identified signaling pathways regulating ciliated cell differentiation. Also, we developed a novel method for in vivo gene delivery into intestines of living mice, and found that the Hippo pathway regulates both stem cell proliferation and goblet cell differentiation in intestine epithelia.

研究分野：生化学、細胞生物学

キーワード：寿命 発生 シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、寿命研究のモデル生物である線虫 *C. elegans* を用い、飢餓ストレスによる寿命延長を発見し、それを制御するシグナル伝達経路を解明してきた (Honjoh et al., *Nature* 457, 726-730 (2009)., Uno et al., *Cell Rep.* 3, 79-91 (2013).). 非常に興味深いことに、飢餓ストレスにより寿命延長した親世代から生まれた子世代は、ストレスを与えなくても寿命が延長することを最近発見した。この現象は、オス親のみに飢餓ストレスを与えた時も同様に観察された。この結果は、親世代において獲得された寿命延長という形質が子世代へ継承・遺伝されること、またその分子機構としてエピジェネティクスの変化が関与することを示唆している。我々のこの観察と同様に、獲得形質は遺伝しないという従来の定説に反して、親世代におけるエピジェネティクス変化が子世代に継承される例が最近報告されているが、寿命延長の報告はない。そこで、我々のこの観察を発展させると共に、その分子機構を解明することを第一の課題とする。この課題は、個体寿命と外因性因子との密接な関係性の解明にとどまらず、エピジェネティクス制御を介した次世代における寿命制御についても明らかにするものであり、個体寿命の制御機構の包括的解明に迫るものである。また、進化的に保存されている転写因子 FOXO/DAF-16 は、様々な動物種において寿命制御の中心的プレイヤーであるが、意外なことに FOXO/DAF-16 の発現が制御される機構については、どのモデル生物においても分かっていなかった。そのため、その機構解明を本研究によって遂行する。

さらにアフリカツメガエル初期胚をモデルとして、表皮分化、特に繊毛細胞分化、を制御するシグナル伝達ネットワークを解明することも目標とする。我々はこれまで、胚の背腹軸決定に ERK 経路が必須であることを示した (Hanafusa et al., *Nature Cell Biol.* 11, 106-109 (2009).) が、最近になって ERK 経路により制御される遺伝子として MAB21 ファミリー分子 MAB21-L3 を同定し、MAB21-L3 が表皮の繊毛細胞の分化に必須であることを示唆する予備的結果を得た。さらに、機能未知 MAP キナーゼファミリー遺伝子 ERK7 も表皮の繊毛細胞の分化に必要であることを示唆する予備的結果も得たので、本研究では、この2つの遺伝子を手がかりに、表皮の繊毛細胞等の分化を制御するシグナル伝達ネットワークを解明する。

2. 研究の目的

本研究では、寿命と発生を制御するシグナル伝達ネットワークの解明を目的とする。特に、上記の研究開始当初の背景を踏まえ、飢餓ストレス等による寿命延長等の獲得形質の次世代への継承とそのエピジェネティクスを中心とする分子機構の解明、寿命制御 FOXO 型転写因子 DAF-16 の発現を調節するエピジェネティクス経路の解析、機能未知 MAB21 ファミリー分子 MAB21L3 や新規 MAP キナーゼ ERK7 が構成するシグナル伝達経路による表皮繊毛細胞分化制御機構の解明などを中心として推進する。

3. 研究の方法

寿命と発生を制御するシグナル伝達経路について、線虫並びにアフリカツメガエルをモデル系として解析する。必要に応じて哺乳類 (マウス個体やヒト株化培養細胞など) を用いた解析を行う。具体的な手段としては、マイクロアレイや次世代シーケンサーによる網羅的な遺伝子発現及びエピジェネティクス解析、パイオインフォマティクスによるプロモーター解析、変異体や RNAi 法による体系的スクリーニング、モルフォリノによるロックダウン実験等を用いる。

4. 研究成果

本研究の第一の研究目的となる、寿命を制御するシグナル伝達ネットワークの解明について、線虫をモデル生物として用いて取り組んだ。まず、様々な外因性ストレスによる寿命延長等の獲得形質が次世代へ継承されることを明らかにした。さらにその継承に関わる因子として、転写因子 DAF-16、HSF-1、SKN-1 とヒストン H3K4 メチル化酵素複合体を同定し、これらの因子が生殖細胞と体細胞組織で組織間ネットワークを形成することによって獲得形質が継承されることを発見した (Kishimoto et al., *Nature Commun.* 8, 14021 (2017).). また、飢餓ストレスによる寿

命延長に關する因子としてコレステロールを同定しその作用機序を明らかにした (Ihara et al., *Exp. Gerontol.* 87, 40-47 (2017).). 加えて、飢餓ストレスによる寿命延長に必要な経路として、miRNA 経路 (Kogure et al., *J. Biol. Chem.* 292, 11300-11309 (2017).) TRA-1 (性決定因子) / DAF-12 (核内ホルモン受容体) 経路 (Honjoh et al., *Cell Rep.* 21, 3646-3652 (2017).) を見出した。さらに、線虫において Tip60/TRRAP ヒストンアセチル化酵素複合体が、DAF-16 のプロモーター領域のヒストンアセチル化を介して DAF-16 の発現を誘導し、寿命とストレス耐性を制御することを明らかにすると共に、哺乳類培養細胞においても同様の経路がストレス耐性を制御することを示し、Tip60/TRRAP 複合体による DAF-16 のエピジェネティックな発現制御が進化的に保存されていることがわかった (Ikeda et al., *EMBO Rep.* 18, 1716-1726 (2017).) これらの成果により、第一の研究目的をほぼ達成することができた。

さらに、本研究の第二の研究目的となる、発生を制御するシグナル伝達ネットワークの解明について、アフリカツメガエルとマウスをモデル生物として用いて取り組んだ。繊毛細胞やイオノサイトが相互排他的に形成されるアフリカツメガエル胚表皮をモデル系として使用し、機能未知分子 MAB21-L3 が側方抑制シグナル Notch の下流で働き、繊毛細胞やイオノサイトの相互排他的分化に必須の因子であることを示した (Takahashi et al., *Nature Commun.* 6, 6017 (2015).) また、繊毛細胞の分化から繊毛形成に至るまでの一連のプロセスを制御するシグナル伝達経路として、転写因子 Foxj1/機能未知 MAP キナーゼ分子 ERK7/Wnt シグナル中継分子 Dishevelled/アクチン制御因子 CapZIP 経路を同定した (Miyatake et al., *Nature Commun.* 6, 6666 (2015).) さらに、非典型的 MAP キナーゼ分子 ERK3 が転写因子 TFAP2 を介してアフリカツメガエル初期胚表皮およびヒト乳癌由来培養細胞の上皮構造を維持することを見出した (Takahashi et al., *J. Biol. Chem.* 293, 8342-8361 (2018).) また、生きたマウスの腸上皮に遺伝子を導入する方法 (iGT 法) を開発し、哺乳類小腸細胞の分化過程において、幹細胞・前駆細胞では転写因子 TEAD、杯細胞では転写因子 KLF4 が、それぞれ Hippo 経路のエフェクター YAP/TAZ のパートナーとして働くことを発見し、Hippo 経路の空間的機能差異を生み出す仕組みを解明した (Imajo et al., *Nature Cell Biol.* 17, 7-19 (2015).) このように、第二の研究目的についても成果をあげることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 20 件、全て査読あり)

- 1) Takahashi C, Miyatake K, Kusakabe M, Nishida E. The atypical mitogen-activated protein kinase ERK3 is essential for establishment of epithelial architecture. *J. Biol. Chem.* 293, 8342-8361 (2018). doi: 10.1074/jbc.RA117.000992.
- 2) Honjoh S, Ihara A, Kajiwara Y, Yamamoto T, Nishida E. The sexual dimorphism of dietary restriction responsiveness in *Caenorhabditis elegans*. *Cell Rep.* 21, 3646-3652 (2017). doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.108.
- 3) Ikeda T, Uno M, Honjoh S, Nishida E. The MYST family histone acetyltransferase complex regulates stress resistance and longevity through transcriptional control of DAF-16/FOXO transcription factors. *EMBO Rep.* 18, 1716-1726 (2017). doi: 10.15252/embr.201743907.
- 4) Kogure A, Uno M, Ikeda T, Nishida E. The microRNA machinery regulates fasting-induced changes in gene expression and longevity in *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.* 292, 11300-11309 (2017). doi: 10.1074/jbc.M116.765065.
- 5) Hoshikawa H, Uno M, Honjoh S, Nishida E. Octopamine enhances oxidative stress resistance through the fasting-responsive transcription factor DAF-16/FOXO in *C. elegans*. *Genes Cells* 22, 210-219 (2017). doi: 10.1111/gtc.12469.

- 6) Kishimoto S, Uno M, Okabe E, Nono M, Nishida E. Environmental stresses induce transgenerationally inheritable survival advantages via germline-to-soma communication in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Commun.* 8, 14031 (2017). doi: 10.1038/ncomms14031.
- 7) Ihara A, Uno M, Miyatake K, Honjoh S, Nishida E. Cholesterol regulates DAF-16 nuclear localization and fasting-induced longevity in *C. elegans*. *Exp. Gerontol.* 87, 40-47 (2017). doi: 10.1016/j.exger.2016.10.011.
- 8) Miyatake K, Kusakabe M, Takahashi C, Nishida E. ERK7 regulates ciliogenesis by phosphorylating the actin regulator CapZIP in cooperation with Dishevelled. *Nature Commun.* 6, 6666 (2015). doi: 10.1038/ncomms7666.
- 9) Takahashi C, Kusakabe M, Suzuki T, Miyatake K, Nishida E. mab21-13 regulates cell fate specification of multiciliate cells and ionocytes. *Nature Commun.* 6, 6017 (2015). doi: 10.1038/ncomms7017.
- 10) Imajo M, Ebisuya M, Nishida E. Dual role of YAP and TAZ in renewal of the intestinal epithelium. *Nature Cell Biol.* 17, 7-19 (2015). doi: 10.1038/ncb3084.

他 10 件

〔学会発表〕(計 58 件)

- 1) Kishimoto S, Uno M, Okabe E, Nono M, Nishida E.
Environmental stresses induce transgenerationally inheritable survival advantages via germline-to-soma communication in *C. elegans*.
21st International *C. elegans* Conference
University of California, Los Angeles, CA, USA.
June 21-25, 2017
- 2) Takahashi C, Miyatake K, Kusakabe M, Nishida E.
ERK3 regulates the integrity of epithelia.
18th International Congress of Developmental Biology
University Cultural Centre, National University of Singapore, Singapore
June 18-22, 2017
- 3) Nishida E.
Life-span regulation by environmental stresses in *C. elegans*.
Keystone Symposia “Aging and Mechanisms of Aging-Related Disease”
Pacifico Yokohama, Kanagawa, Japan
May 16, 2017
- 4) Kishimoto S, Uno M, Nishida E.
Environmental stresses induce transgenerationally inheritable survival advantages via germline-to-soma communications.
C. elegans Development, Cell Biology and Gene Expression Meeting
The Allied Genetics 2016 Conference
The Orlando World Center Marriott, Orlando, FL, USA
July 13-17, 2016
- 5) Ihara A, Uno M, Miyatake K, Honjoh S, Nishida E.

The role of cholesterol in DAF-16 nuclear localization and fasting-induced longevity in *C. elegans*.

20th International *C. elegans* Meeting
University of California, Los Angeles, CA, USA
June 24-28, 2015

- 6) Kishimoto S, Uno M, Nishida E.
Transgenerational inheritance of hormetic effects in *C. elegans*.
20th International *C. elegans* Meeting
University of California, Los Angeles, CA, USA
June 24-28, 2015
- 7) Hoshikawa H, Uno M, Yoshimura H, Honjoh S, Nishida E.
A protective role of sensory perception through amine neurotransmitters in *C. elegans*.
20th International *C. elegans* Meeting
University of California, Los Angeles, CA, USA
June 24-28, 2015
- 8) Kogure A, Uno M, Momonami A, Nishida E.
Role of miRISC in dietary restriction-induced longevity in *C. elegans*.
EMBO Workshop Developmental Circuits in Aging
Heraklion, Crete, Greece
May 25-28, 2015
- 9) Takahashi C, Kusakabe M, Suzuki T, Miyatake K, Nishida E.
Xenopus mab21-l3 is required for cell fate specification of multiciliate cells and ionocytes.
15th International *Xenopus* Conference
Asilomar Conference Grounds, Pacific Grove, California, CA, USA
August 24-28, 2014
- 10) Miyatake K, Kusakabe M, Takahashi C, Nishida E.
ERK7, a novel regulator of ciliogenesis, is required for basal body migration.
15th International *Xenopus* Conference
Asilomar Conference Grounds, Pacific Grove, California, CA, USA
August 24-28, 2014

他 4 8 件

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.bdr.riken.jp/jp/research/labs/nishida-e/index.html>

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

(2) 研究協力者

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、研究者個人に帰属されます。