

当研究室では細胞の蛋白分泌や極性の形成・維持に重要な極性輸送のメカニズムの解明を目指して、細胞、マウス等を用いた研究を進めています。

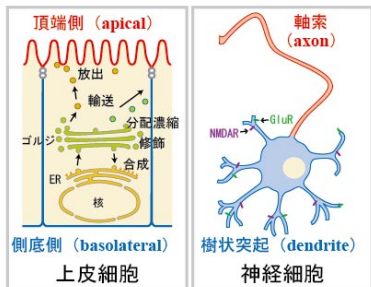


図1：上皮細胞、神経細胞の極性について

細胞の極性輸送とは？ (図1)

細胞の極性は細胞の機能に重要である。上皮細胞は頂端側 (apical)、側底側 (basolateral) という極性 (向き) を持つことが栄養の吸収や分泌などの機能に重要である。同様に神経細胞も軸索、樹状突起という極性のある構造をとることが神経伝達に必須である。

これらの極性を持つ細胞では、色々な蛋白が、方向性のある輸送 (極性輸送) によって目的地に運ばれてその役割を果たしている。この極性輸送は、

- a. ゴルジ装置における輸送小胞への蛋白の分配、濃縮
 - b. 輸送小胞の目的地への輸送
- 等で成り立っていると考えられている。

細胞の極性輸送のメカニズムを解明するには？ (図2)

当研究室では、蛋白質の分配や輸送に重要と考えられている蛋白 (右図参照) の遺伝子のノックアウトマウスを様々な細胞生物学的解析法 (形態観察、細胞への遺伝子導入、遺伝子改変、ライプイメーシング等) を用いて遺伝子改変マウス個体や細胞の極性輸送にどのような変化が生じるのか、解析を行っています。

更に、このような既存分子の解析だけでなく、細胞の極性輸送に重要な新規分子の同定と解析も行っています。

Rab8ノックアウトマウスの解析で解明されたこと (図3)

Rab8は小腸の吸収上皮細胞に多く発現し、basolateral面への極性輸送に必要と考えられていた低分子量のGTP結合タンパク質である。我々が作製したRab8を欠損するマウスは生後3~4週間経つと、栄養失調で死亡した。このマウスの小腸の細胞ではapical面に分布する酵素やトランスポーターが細胞内に蓄積し、小腸での栄養の吸収が殆ど見られなかった。これらの症状は、微絨毛萎縮症 (小腸から栄養が吸収できない病気) の患者さんの症状と非常に良く似ていた。また微絨毛萎縮症の患者さんの小腸でRab8の量が大幅に減少していた。

この研究 (Nature 448, p366, 2007) によって、

1. apical方向への極性輸送を司る初めての分子としてRab8を同定した。
 2. 腸における栄養吸収のメカニズムの一端が解明できた。
 3. さらに腸からの栄養吸収が低下する微絨毛萎縮症のモデルマウスを作製することが出来た。
- この結果から、Rab8がこの病気の診断治療の標的となる可能性を示した。

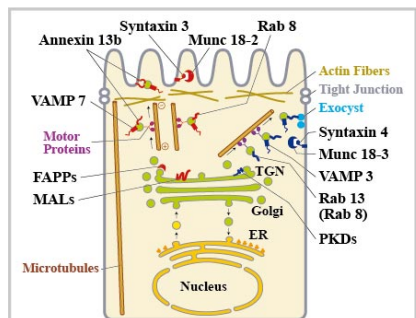


図2：上皮細胞の極性に関する分子

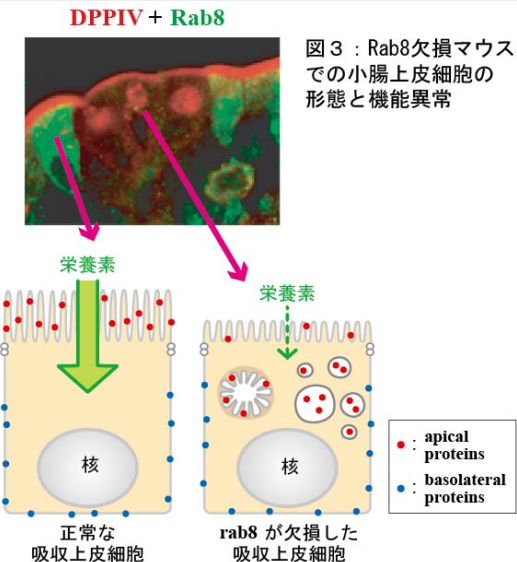


図3：Rab8欠損マウスでの小腸上皮細胞の形態と機能異常

その後のapical面への極性輸送の分子機構の解析 (図4)

我々の研究によって、Rab8が上皮細胞のapical面への極性輸送に重要なことが分ったが、Rab8がどのような分子機構でapical面への輸送を制御するかは不明だった。その解明のため、我々は酵母2ハイブリッド法を用いて小腸のcDNA libraryからRab8に結合する分子としてEHBP1L1という分子を同定した。EHBP1L1はRab8と共にrecycling endosomeに局在した。また、EHBP1L1は膜を曲げる分子Bin1、膜を切って小胞を作る分子dynaminと結合した。

これらの結果からEHBP1L1はrecycling endosomeでapicalに向かう小胞を形成するのに重要なことが示唆された (JCB 212, p297, 2016) (図4)。

また、ノックアウトマウスを用いた解析で以下のことを明らかにした。

1. Rab8にはRab8a, Rab8bの2つの遺伝子があるが、その両方ともapical面への輸送に重要であったが、これらは絨毛の形成には重要ではなかった (JCS 127, p422, 2014)。
2. 他の低分子量GTP結合タンパク質Rab11もapical面への輸送に重要であった (Biol Open 4, p86, 2014)。
3. 細胞を用いた他のグループの知見で

apical面 (Rab6a, VAMP7, FAPP1/2, MAL, MAL2), basolateral面 (PKD1/2) への輸送に重要と言われる分子が指摘されていたが、これらの分子のノックアウトマウスでは極性輸送への異常が見られなかった (Traffic 12, p1383, 2011; Nature 501, p116, 2013; JCB 218, p783, 2019; FASEB J 34, p9450, 2020など)

apical面への輸送は膵臓の内外分泌や神経発生にも重要である (図5)

上皮細胞のapical面への極性輸送、特に小胞と細胞膜との融合に重要な分子としてSNAP23という膜融合に関与するSNAREタンパク質が知られていた。しかし、SNAP23の組織や個体での機能は不明な点が多かった。我々は膵臓の内外分泌腺特異的にSNAP23を欠損するマウスではアミラーゼなどの外分泌は殆ど生じないが、インスリンの内分泌はむしろ亢進することを発見した。これからSNAP23を阻害する分子はインスリン分泌を亢進して血糖値を下げるのが予想できたため、SNAP23に結合する低分子化合物のスクリーニングを行い、その低分子化合物がマウスの血糖値を下げ、糖尿病治療薬のよい候補になりうることを明らかにした (JCB 215, p121, 2016)。

また神経特異的にSNAP23を欠損するマウスは小脳や海馬が欠損するという顕著な表現型を示した。その原因が、N-cadherinをapical面に近い接着複合体に輸送する小胞と細胞膜との融合が阻害され、接着複合体が形成されなくなることに起因することを示した (JCB 220: e201910080, 2021) (図5)。

今後の展望

上皮細胞のapical面への輸送の分子機構の解明

apical面に局在する分子 (酵素、トランスポーター等) の選別がどこでどのようにおきているかは未だ不明である。EHBP1L1に結合する分子の探索等によってその解明を行いたい。

EHBP1L1の脱核における役割の解明

EHBP1L1の欠損マウスは赤血球の脱核に異常を生じ、重篤な貧血によって生後すぐ死亡する。これは血球の極性形成と上皮細胞の極性形成の分子機構に共通性があることを示唆する。そこでEHBP1L1の脱核における機能を明らかにすることで極性形成過程に共通な分子機構を明らかにする。

ゴルジ体の槽内における糖鎖修飾の分布様式とその分子機構の解明
 ゴルジ体での糖鎖修飾がタンパク質の極性を持った分布に重要なことが古来より知られる。我々は異なる糖鎖修飾を行う酵素がゴルジ体内で異なる分布を示すことを明らかにしている。今後、どのような分子機構によって、その分布の違いが生じるかを明らかにし、糖鎖修飾の分子機構についても貢献したい。

細胞の形がどうやって出来るかに興味のある人
 細胞・組織・個体の形態観察をやってみたい人
 ゴルジ体やタンパク質の糖鎖修飾に興味のある人
 など歓迎します。経験は問いません。

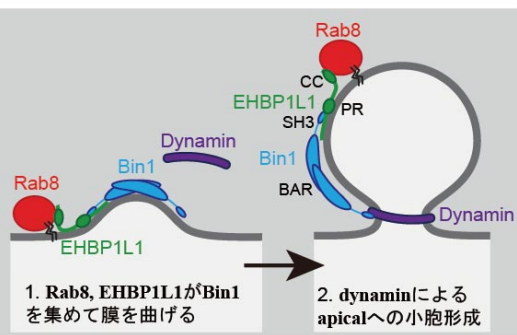


図4：EHBP1L1のapical面への輸送における役割

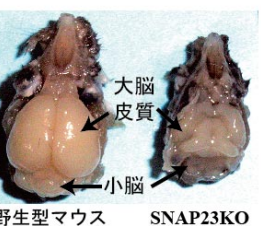


図5 上：右のSNAP23欠損マウスでは小脳と大脳皮質が欠損する
 左：SNAP23のapical面への輸送と神経発生における機能

