

2018年9月3日

報道関係者各位

慶應義塾大学

## 体内の管組織の新たな形成メカニズムを解明

－再生医学・がんの理解につながる成果－

近年の再生医療への期待の中で、3次元的な器官形成機構の解明はますます重要と考えられています。特に私たちの体内には肺、消化管、血管等の数多くの管組織が存在しますが、これらの管が形成されるメカニズムはほとんどわかっていません。慶應義塾大学理工学部 井本正哉教授、堀田耕司専任講師、同大学大学院理工学研究科の溝谷優治（博士課程3年）らは、この問題に取り組み、組織の観察に適したホヤを用い、ケミカルバイオロジーの研究手法で脊索管形成を阻害する化合物を見出しました。次にこの化合物が特定のタンパク質に結合し、別のタンパク質との相互作用を阻害することを見出しました。この2種類のタンパク質の相互作用の脊索管形成における役割を解析した結果、この相互作用が細胞の基底部分から管腔にむかう物質の「流れ」を引き起こし、この「流れ」に乗って管腔の形成に関わるさまざまな基底部分の因子を管腔へと運んでいくことを明らかにしました。このようなメカニズムを解明したのは世界初です。本研究はケミカルバイオロジーと発生生物学を融合させたユニークなアプローチです。その過程では、管形成とがんとの意外な関わりも垣間見えてきました。本研究は発生学分野のみならず、再生医学やがん研究など、幅広い分野における知見をもたらすことが期待されます。

研究成果は、2018年8月29日（米国東部時間）に米国科学アカデミー紀要（PNAS）にオンライン掲載されました。

### 1. 研究背景

近年の再生医療分野の発展に伴い、器官形成機構の解明はその重要性を増しています。とくに私たちの体内にはあらゆる管組織が存在しますが、これらがどのように形成されるかについてはほとんどわかっていません。そこで本研究グループはヒトに近縁なモデル生物であるホヤに着目し、ケミカルバイオロジーの研究手法でこの問題に取り組みました。まず、様々な生理活性を示す化合物をホヤ幼生のいる海水に加え [1]、その後の発生を顕微鏡で観察しました。

その結果、本研究グループがかつてがん細胞の転移阻害として開発した UTKO1（図1）という化合物 [2,3]がホヤの尾の中の脊索の管の形成を抑えていることがわかりました。そこで、UTKO1 がどのような機構でホヤの脊索管形成を阻害するかを解析することで、脊索管の形成の分子メカニズムの解明に挑みました。

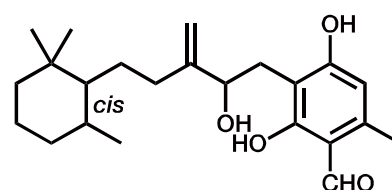


図1 UTKO1の構造

## 2. 研究内容・成果

### ① UTKO1 による脊索管の形成阻害

ホヤの尾の内部にある脊索管は図2のように発生が進みます。受精後12時間で脊索細胞(赤)は横一列に並び、3時間後には細胞間に管腔(青)が形成されはじめます。これら管腔は次第に拡大し、最終的に互いに連結して一本の脊索管を形成します。しかし、UTKO1 を処理したホヤでは、管腔の開口および拡大が抑えられ、脊索管の形成が完了しないことを見出しました。

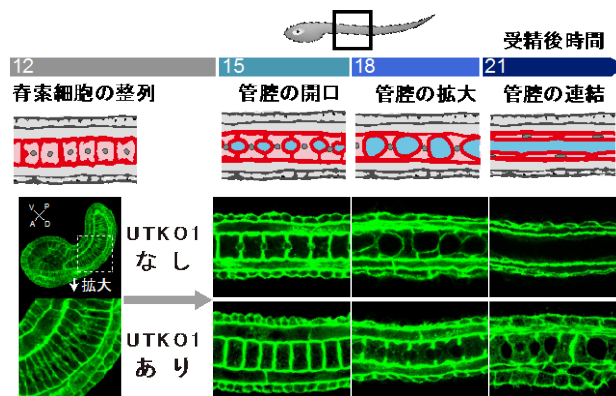


図2 ホヤの脊索管の形成

### ② どのような機構で UTKO1 は脊索管形成を阻害するか？

実はこれまでの研究では UTKO1 はヒトがん細胞において 14-3-3 というタンパク質の機能を抑えることがわかっていました [2]。そこで UTKO1 がホヤにおいても 14-3-3 に作用するか検討しました。ホヤの 14-3-3 は 4 種類のアイソフォームが存在しますが、UTKO1 はそのうち 14-3-3εa タンパク質にだけ結合すること、また 14-3-3εa をノックダウンしたホヤ変異体では UTKO1 同様に脊索の管形成が抑えられることを見出しました。すなわち UTKO1 は 14-3-3εa に結合してその機能を抑えることで管形成を抑えていることがわかりました。では、UTKO1 は 14-3-3εa のどのような機能を抑制しているのでしょうか？ 本研究グループは 14-3-3εa が ERM という脊索管形成に関するタンパク質と結合すること、また UTKO1 は 14-3-3εa に結合することで 14-3-3εa と ERM の結合を阻害することを見出したことから、14-3-3εa と ERM の相互作用が管形成に重要であることがわかりました。

### ③ 14-3-3εa と ERM の相互作用は脊索管形成においてどのような役割を演じているか？

この疑問に取り組むために、生きたまま体内を観察できるホヤの利点を活かしてライブ観察することにしました。管腔の開口前、14-3-3εa と ERM が存在していたのは意外にも管腔から離れた基底部、特に中央の収縮環でした (図 3A・オレンジ)。そして管腔が開きだすと、両者は収縮環から管腔に向かって周期的に発生する「流れ」に乗って管腔に移動することを発見しました。ところが、この「流れ」は UTKO1 処理したホヤや 14-3-3εa と ERM の結合能を失った変異体ホヤではみられませんでした。このことは 14-3-3εa と ERM の相互作用がこの「流れ」を作っているということを示します。では、この「流れ」を発生させる意味は何でしょうか？ 実はこの「流れ」によって管腔に移動するのは 14-3-3εa と ERM だけでなく、基底部の管腔形成に重要なミオシン II やその他細胞質の因子の移動も伴っていました。以上より管腔の開口前の 14-3-3εa と ERM の収縮環での結合が、収縮環から管腔に至る物質の「流れ」を発生させて、その「流れ」に乗せて管腔の形成に重要な分子を運ぶことで管腔の形成に寄与すると結論づけました。

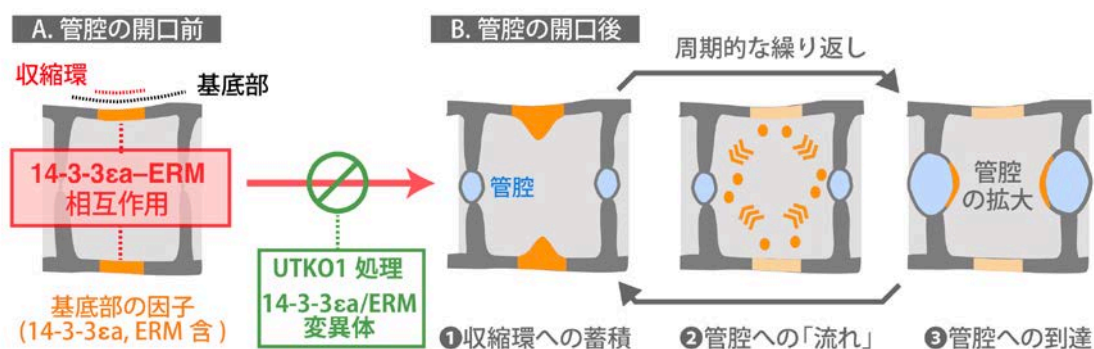


図3 14-3-3 と ERM によって誘導される管腔の形成モデル

### 3. 今後の展開

これまで管形成は主に管腔に豊富に存在する分子に着目し解析されてきました。本研究では化合物を用いるケミカルバイオロジーの研究手法で、管形成に関与する分子 14-3-3ea を見出しただけでなく、14-3-3ea と ERM が基底膜で相互作用することで生み出す物質の「流れ」の重要性も示しました。今後、この基底膜からの「流れ」のより詳細なメカニズムがわかれば、個々の細胞がどのように管組織を作るかについて理解が深まり、iPS 細胞からどのように臓器を作るかといった再生医療への応用にも貢献できるかもしれません。また本来ヒトがん細胞の遊走を抑える化合物として見出された UTKO1 が管形成を抑えたというのも興味深い側面です。管形成もがん転移もどちらも細胞の運動能力が高まっているという点でなにか共通するメカニズムがあるかもしれません。本研究は発生学における管形成のメカニズム解明に貢献することとどまらず、再生医学、がん研究といった幅広い分野に貢献することが期待できます。

なお、本研究は挑戦的萌芽研究 (JP25560419)、新学術領域研究 (JP23102006, JP17H06401, JP16H01451)、基盤研究 (JP16K07426)、特別研究員奨励費 (JP16J04182)の支援を受けました。本研究は、慶應義塾大学理工学部 岡浩太郎教授、田代悦専任講師、同大学大学院理工学研究科の鈴木麻友 (2012年3月修士課程修了)、元東京大学大学院農学生命科学研究科教授 渡邊秀典博士、筑波大学下田臨海実験センター 稲葉一男教授、柴小菊助教との共同研究です。

#### <参考文献>

- [1] Mizotani Y, Itoh S, Hotta K, Tashiro E, Oka K, Imoto M. Evaluation of drug toxicity profiles based on the phenotypes of ascidian *Ciona intestinalis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 463(4): 656–660, 2015
- [2] Sawada M, Kubo S, Matsumura K, Takemoto Y, Kobayashi H, Tashiro E, Kitahara T, Watanabe H, and Imoto M. Synthesis and anti-migrative evaluation of moverastin derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(5):1385–1389, 2011.
- [3] Kobayashi H, Ogura Y, Sawada M, Nakayama R, Takano K, Minato Y, Takemoto Y, Tashiro E, Watanabe H, and Imoto M. Involvement of 14-3-3 proteins in the second epidermal growth factor-induced wave of Rac1 activation in the process of cell migration. *Journal of Biological Chemistry*, 286(45):39259–39268, 2011.

#### <原論文情報>

Mizotani Y, Suzuki M, Hotta K, Watanabe H, Shiba K, Inaba K, Tashiro E, Oka K, Imoto M, 14-3-3ea directs the pulsatile transport of basal factors towards the apical domain for lumen growth in tubulogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, doi: 10.1073/pnas.1808756115

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

#### ・研究内容についてのお問い合わせ先

慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科 教授 井本正哉 (いもとまさや)

TEL : 045-566-1557 FAX : 045-566-1557 E-mail : [imoto@bio.keio.ac.jp](mailto:imoto@bio.keio.ac.jp)

慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科 専任講師 堀田耕司 (ほったこうじ)

TEL : 045-566-1700 FAX : 045-566-1789 E-mail : [khotta@bio.keio.ac.jp](mailto:khotta@bio.keio.ac.jp)

#### ・本リリースの配信元

慶應義塾広報室 (村上)

TEL : 03-5427-1541 FAX : 03-5441-7640

Email : [m-pr@adst.keio.ac.jp](mailto:m-pr@adst.keio.ac.jp) <https://www.keio.ac.jp/>