



---

# 第58回日本生化学会北海道支部例会

日本生化学会北海道支部・東北支部／日本生物物理学会北海道支部

合同シンポジウム

---

## プログラム・抄録集

令和3年7月10日(土)

ZoomによるWeb開催  
札幌医科大学医学部D102講義室



## 会場アクセス

### 所在地

札幌市中央区南1条西17丁目

### 地下鉄

- 最寄り駅:地下鉄東西線「西18丁目駅」
- 経路:札幌駅・大通駅から
  - 南北線「さっぽろ」駅(JR 札幌駅直結)から「大通」駅(2分)
  - 「大通」駅で東西線「宮の沢」行に乗換え「西18丁目」駅(4分)下車
  - 「西18丁目」駅6番出口より徒歩約5分

### 市電

- 最寄り駅:「西15丁目」
- 経路:
  - 「西4丁目」駅から「西15丁目」駅(8分)下車
  - 「西15丁目」駅から徒歩5分

### バス

- 最寄りバス停:「医大病院前」
- 経路(札幌駅(バスターミナル)から、JR 北海道バス):
  - JR 札幌駅「バスターミナル7番のりば」から、JR 北海道バス(啓明線[51])「医大病院前」(10分)下車
- 経路(桑園駅から、JR 北海道バス):
  - 桑園駅(駅前ロータリー)から JR 北海道バス(桑園円山線[桑11])「医大病院前」(6分)下車



第 58 回日本生化学会北海道支部例会は、今回はオンラインを基本とした開催のため、セキュリティ等、管理上の課題がありますことからポスター発表は実施せず、口頭発表のみとなりますことをご了承ください。

会場について：

札幌医科大学内に会場を設けていますが、Zoom での参加が可能です。会場までいらしてご発表いただくことは歓迎いたしますが、三密を避けるためにできるだけ Zoom で参加いただくをお願いいたします。

札幌医科大学内会場：教育研究棟 D102 講義室（札幌市中央区南 1 条西 17 丁目、会場へのアクセスは前頁地図をご覧ください）

発表について：

- 1) 発表は全て Zoom でのリモート発表となります。
- 2) 札幌医科大学会場に設定しています PC をホストとして zoom を管理いたします。各演題発表時刻直前にこちらから、演者と座長を共同ホスト設定いたしますので、講演中は自身で操作を行ってください。  
**Zoom への入室 ID: 932 5337 2152**  
**Password: 979654**  
もしくは、以下の URL から直接入室することが可能です。  
<https://zoom.us/j/93253372152?pwd=RXhSNFJRTlRpa0dEMDdOdmRtajhrQT09>
- 3) 発表時間は、一般講演では講演 12 分、質疑応答 3 分、支部若手奨励賞受賞講演は講演 20 分、質疑応答 5 分、特別講演は講演 25 分、質疑応答 5 分、合同シンポジウムは講演 17 分、質疑応答 3 分もしくは講演 20 分、質疑応答 5 分といたします。
- 4) 発表終了時に 1 鈴、講演終了 2 分前に 2 鈴、講演終了時に 3 鈴を鳴らします。お時間をお守りいただけますようお願いいたします。

問い合わせ先

〒060-8556 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目  
札幌医科大学 医療人育成センター 教育開発研究部門内  
日本生化学会北海道支部 第 58 回支部例会事務局  
相馬仁(例会長)  
TEL: 011-611-2111(内線 23700)  
FAX: 011-612-5861  
E-mail: [jbs-hs-58@sapmed.ac.jp](mailto:jbs-hs-58@sapmed.ac.jp); または [sohma@sapmed.ac.jp](mailto:sohma@sapmed.ac.jp)

## 第 58 回 日本生化学会北海道支部 支部例会

日本生化学会北海道支部・東北支部／日本生物物理学会北海道支部 合同シンポジウム  
プログラム

日時:令和3 年7 月10 日(土) 午前9 時25 分より

場所:ZoomによるWeb開催／札幌医科大学医学部教育研究棟I D102講義室

8:30~ Zoom開始

---

9:25~9:30 開会の辞

日本生化学会北海道支部 第58 回例会長

相馬仁 (札幌医科大学・医療人育成センター・教育開発研究部門)

---

\* 優秀講演賞審査対象講演

9:30~10:30 一般講演

座長: 高橋素子(札幌医科大学・医学部・医化学講座)

### O-1\*

核小体タンパク質Nucleophosminのリン酸化による核小体形成制御機構の解明

○谷愛海<sup>1</sup>、伊藤祥吾<sup>1</sup>、及川ゆい<sup>1</sup>、鎌田瑠泉<sup>1,2</sup>、坂口和靖<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北海道大学・大学院総合化学院・総合化学専攻・生物化学研究室 <sup>2</sup>北海道大学・大学院理学院・化学部門・生物化学研究室

### O-2\*

脊椎動物における癌抑制タンパク質p53とp53ファミリーの四量体構造の進化

○坂口周弥<sup>1</sup>、中川夏美<sup>1</sup>、鎌田瑠泉<sup>1,2</sup>、James G. Omichinski<sup>3</sup>、坂口和靖<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院・総合化学院・生物化学研究室 <sup>2</sup>北海道大学大学院・理学院・化学部門・生物化学研究室 <sup>3</sup> University of Montreal, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, Canada

座長: 白土明子(札幌医科大学・医療人育成センター・教養教育研究部門・化学)

### O-3

メラノーマにおけるDGKGの生理機能

○甲斐正広、佐藤亜紀子、山本英一郎、新沼猛、北嶋洋志、鈴木拓

札幌医科大学・医学部・分子生物学講座

## O-4

### ショウジョウバエと地域食品を利用したがん予防への取り組み

○永長一茂<sup>1,2</sup>、櫛引雅子<sup>1</sup>、白土明子<sup>3,4</sup>

弘前大学・<sup>1</sup>地域戦略研究所・食料科学研究部門、<sup>2</sup>大学院地域共創科学研究科、札幌医科大学・<sup>3</sup>医療人育成センター・教養教育研究部門、<sup>4</sup>大学院医学研究科・細胞分子機能学

---

10:35~11:50 支部若手奨励賞受賞者講演

座長： 田中一馬(北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野)

## Y-1

### 脂質非対称性の新規調節因子*SFKI*は細胞膜の低透過性に寄与する

○三岡哲生<sup>1</sup>、岸本拓磨<sup>2</sup>、田中一馬<sup>2</sup>

<sup>1</sup>青山学院大学・理工学部・化学・生命科学科・分子遺伝学教室 <sup>2</sup>北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野

座長： 鈴木利治(北海道大学・大学院薬学研究院・神経科学研究室)

## Y-2

### 線虫を用いたプレシナプス電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネル集積制御メカニズムの解析

○櫛引勇人<sup>1</sup>、鈴木利治<sup>1</sup>、多留偉功<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・神経科学研究室

座長： 畠山鎮次(北海道大学・大学院医学研究院・生化学分野・医化学教室)

## Y-3

### 非自己成分の認識機構とその生理的意義についての研究

○近藤 豪<sup>1</sup>、丸山 健太<sup>2,3</sup>、畠山 鎮次<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学・大学院医学研究院・生化学分野・医化学教室 <sup>2</sup>生理学研究所・生体機能調節研究領域 <sup>3</sup>昭和大学・医学部・生理学講座

---

12:40~13:00 日本生化学会北海道支部 総会

議長：日本生化学会北海道支部長

畠山 鎮次(北海道大学・大学院医学研究院・生化学分野・医化学教室)

---

---

13:00~15:00 特別講演

座長： 坂口和靖(北海道大学・大学院理学研究院・化学部門・生物化学研究室)

#### SL-1

非筋細胞ミオシンIIの細胞内ダイナミクスとアイソフォーム特異的機能

○高橋正行

北海道大学大学院・理学研究院・化学部門・生物有機化学研究室

座長： 若宮伸隆(酪農学園大学・農食環境学群・医学・生理学研究室)

#### SL -2

多細胞生物の臓器再生における毛細血管幹細胞の役割

○川辺淳一

旭川医科大学・医学部・生化学講座

座長： 田村正人(北海道大学・大学院歯学研究院・口腔分子生化学教室)

#### SL -3

ケモカイン受容体CCR5:HIV感染と骨代謝調節をつなぐ分子シグナル

○飯村忠浩<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学・大学院歯学研究院・薬理学教室

座長： 村上正晃(北海道大学・遺伝子病制御研究所・大学院医学院・分子神経免疫学分野)

#### SL -4

細胞空間の非対称パターンニングを脱構築と再構築で理解する

○茂本文夫

北海道大学・遺伝子病制御研究所・発生生理学分野

---

15:10~17:00 日本生化学会北海道支部・東北支部／日本生物物理学会北海道支部 合同シンポジウム”構造解析が切り拓く生命科学“

座長： 有木茂(札幌医科大学・医療人育成センター・教養教育研究部門・化学)

喜多俊介(北海道大学・大学院薬学研究院・生体分子機能学研究室)

#### Sy-1

狂犬病ウイルスP蛋白質によるJAK-STATシグナル阻害機構の解明

○杉山葵<sup>1</sup>, 南未来<sup>1</sup>, 野間井智<sup>2</sup>, 蔣欣欣<sup>2</sup>, Paul R. Gooley<sup>3</sup>, Gregory W. Moseley<sup>4</sup>, 前仲勝実<sup>2</sup>,

姚閔<sup>1</sup>, 尾瀬農之<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>北海道大学・大学院生命科学院・X線構造生物学的研究室 <sup>2</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・生体分子機能学研究室 <sup>3</sup>Department of Biochem. and Mol. Biol., Bio 21 Mol. Sci. and Biotech. Institute, Univ. of Malborne

<sup>4</sup> School of Biomed. Sci., Monash Univ. <sup>5</sup>JST さきがけ

## Sy-2

### 犬ジステンパーウイルスによる細胞侵入

○福原秀雄<sup>1</sup>、湯本航平<sup>2</sup>、酒匂 幸<sup>3</sup>、橋口隆生<sup>4</sup>、竹田 誠<sup>5</sup>、尾瀬農之<sup>6</sup>、前仲勝実<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・創薬科学研究教育センター <sup>2</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・生体分子機能学研究室 <sup>3</sup>九州大学・生体防御医学研究所 <sup>4</sup>京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・ウイルス制御分野 <sup>5</sup>国立感染症研究所・ウイルス第三部 <sup>6</sup>北海道大学・先端生命科学研究院

## Sy-3

### 感染症の理解と対策に向けたリボソームのクライオ電子顕微鏡構造解析

○横山武司<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大学・大学院生命科学研究科・応用生命分子解析分野 <sup>2</sup>理化学研究所・生命機能科学研究センター (BDR)

## Sy-4

### N結合型糖鎖の統合グライコミクスによる小胞体ストレスの定量的な評価

○藤谷直樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>札幌医科大学・医学部・医化学講座

## Sy-5

### 初期分泌経路における亜鉛イオンに依存したタンパク質品質管理機構の分子構造基盤

○稲葉 謙次<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大学・多元物質科学研究所 生体分子構造分野

---

17:00~17:05 開会の辞

日本生化学会北海道副支部長(次期支部長)

田村正人(北海道大学・大学院歯学研究院・口腔分子生化学教室)

(優秀講演賞発表)

---



# 抄録集



## 核小体タンパク質 Nucleophosmin のリン酸化による核小体形成制御機構の解明

氏名：○谷愛海<sup>1</sup>、伊藤祥吾<sup>1</sup>、及川ゆい<sup>1</sup>、鎌田瑠泉<sup>1,2</sup>、坂口和靖<sup>1,2</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学・大学院総合化学院・総合化学専攻・生物化学研究室

<sup>2</sup>北海道大学・大学院理学院・化学部門・生物化学研究室

### 【要旨】

核小体は細胞の核内に存在する膜のない構造体であり、細胞の増殖や成長に必須である RNA プロセッシングやリボソーム生合成の場である。核小体は、Nucleophosmin (NPM) や Fibrillarin などのさまざまな核小体タンパク質、およびリボソームタンパク質、RNA による「液液相分離; Liquid-Liquid Phase Separation (LLPS)」によって形成されていることが知られている[1]。しかしながら、核小体の形成過程を支配する要因は不明のままである。また、多くの癌細胞において核小体の形成不全が報告されており、より効果的な癌治療法開発のためにも核小体の形成機構の解明が求められている。

Ser/Thr ホスファターゼ PPM1D は、細胞周期や免疫、精子形成、細胞代謝など、多くの細胞機能を調節する多機能ホスファターゼである。一方で、種々の悪性腫瘍において PPM1D の遺伝子異常や過剰発現が報告されており、抗癌剤開発の有望な標的として注目されている[2]。当研究室では、PPM1D の過剰発現が、NPM の Ser4 および Thr199 の異常なリン酸化を誘導し、核小体の数とサイズを増加させることを報告している(図1)[3]。これは、NPM の Ser4 および Thr199 のリン酸化が核小体形成において重要な因子であることを示唆している。

本発表では、NPM Ser4, Thr199 のリン酸化による核小体形成の制御について報告する。PPM1D 過剰発現による核小体形成不全の誘導の際に、成熟した核小体の他に、NPM を含む小さな構造体 (Nucleophosmin Containing Small body; NCS body) が形成される興味深い現象を発見した(図2)。また、NCS body の形成率は PPM1D 発現量依存的に増加しており、当研究室で開発した PPM1D 特異的阻害剤 SL-176 の添加により NCS body の形成割合が減少することが示された。さらに、NPM の Ser4 と Thr199 の過剰なリン酸化によって NCS body の形成割合が変化することが示され、NPM のリン酸化が核小体形成を制御していることが示唆された。また、SEC-MALS を用いた解析により、NPM のリン酸化によって多量体形成能が調節されている事が明らかとなり、これが核小体形成の制御に関与していることが示唆された。

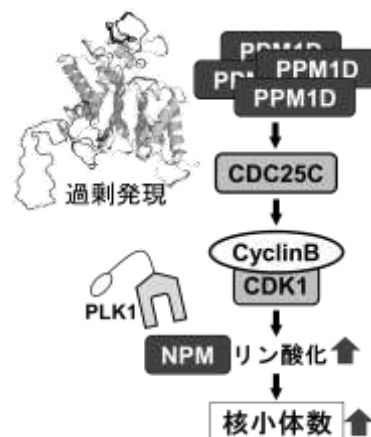


図1 PPM1D による核小体形成制御

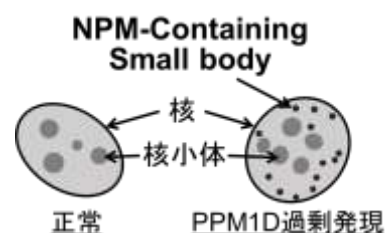


図2 NCS body

### 【参考文献】

- 1) Lafontaine DLJ., Riback JA., Bascetin R., and Brangwynne CP. (2020) Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 22(3), 165-182.
- 2) Kamada R, Kudoh F, Ito S., Tani I., Janairo J. I. B., Omichinski J. G., and Sakaguchi K. (2020) Pharmacology & Therapeutics, 215, 107622.
- 3) Kozakai Y., Kamada R., Furuta J., Kiyota Y., Chuman Y., and Sakaguchi K. (2016) Sci. Rep., 6, 33272.

## 脊椎動物における癌抑制タンパク質 p53 と p53 ファミリーの四量体構造の進化

氏名：○坂口周弥<sup>1</sup>、中川夏美<sup>1</sup>、鎌田瑠泉<sup>1,2</sup>、James G. Omichinski<sup>3</sup>、坂口和靖<sup>1,2</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学大学院・総合化学院・生物化学研究室

<sup>2</sup>北海道大学大学院・理学研究院・化学部門・生物化学研究室

<sup>3</sup> University of Montreal, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, Canada

### 【要旨】

癌抑制タンパク質p53は、様々な細胞危機ストレスに応答して細胞周期停止やアポトーシスを誘導しゲノム完全性を維持する機能を有する。一方、p53ファミリータンパク質のp63およびp73は発生や分化の機能を有する(1,2)。これらp53ファミリータンパク質は脊椎動物に広範に発現しており、機能発現にはホモ四量体形成が必須である。また、ヒトにおいて四量体形成ドメイン(TD)に第2ヘリックスを有するp63とp73はヘテロ多量体を形成し互いの機能を負に制御しているが、第2ヘリックスがないp53はヘテロ多量体を形成しない(Fig.1)。さらにzebrafish p53TDにはヒトのp63TDと類似した第2ヘリックスが存在する。しかしながら、脊椎動物の進化におけるp53ファミリーの機能と構造変化や多量体形成との関係については明らかではなく、その解明が強く望まれている。

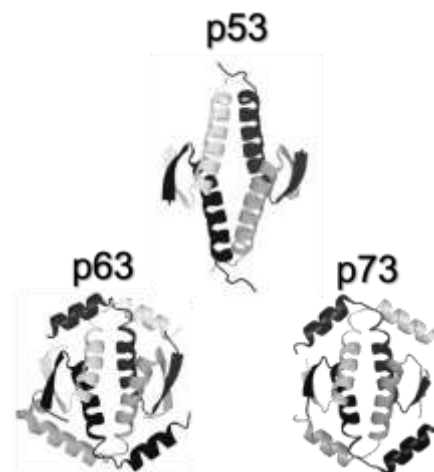


Fig. 1 ヒト p53 ファミリーTD の構造

本発表では、網羅的な解析による様々な生物種のp53TDおよびp63TD構造の進化について報告する。生物種は、無顎上綱のlamprey、軟骨魚綱のghost shark、条鰭綱のgar、zebrafish、catfish、肉鰭綱のcoelacanth、両生綱のfrog、爬虫綱のsoftshell turtle、哺乳綱のhumanを選択した。熱安定性解析の結果、p53TDは条鰭綱までの進化では第2ヘリックスを有したまま安定性が増強した一方、哺乳綱までの進化では第2ヘリックスの喪失の後、安定性が増強したことを明らかにした。また、p63TDについては条鰭綱までの進化と哺乳綱までの進化のいずれの進化においても安定性が増強していた。さらに、それぞれの生物種に対するp53とp63のヘテロ多量体形成能についてPull-down assayと細胞内FRETにより解析を実施した。興味深いことに初期脊椎動物のlampreyで有していたヘテロ多量体形成能はその後の進化で弱まり、より後期に進化した生物種では喪失していたことを明らかにし、進化の過程でp53とp63のヘテロ多量体形成能が失われていることが示された。

以上、本研究より以下の新規仮説を提唱した。すなわち、『p53ファミリーは新たな相互作用の形成やそれに伴う熱安定性の増強、p53の第2ヘリックス喪失がp53とp63のヘテロ多量体形成能喪失に繋がり、p53がゲノム完全性を維持する特異的な機能を獲得することにつながった』というものである。この仮説は、進化における多量体形成の安定性の増強のみならず、ヘテロ多量体形成の喪失に意義があることを示しており、多様な多量体形成タンパク質への適応が強く期待される。

### 【参考文献】

- 1) Rui Kamada, Yu Toguchi, Takao Nomura, Toshiaki Imagawa, Kazuyasu Sakaguchi, *Biopolymers*, **106**, 598-612 (2016)
- 2) G. Marius Clore, James Ernst, Robert Clubb, James G. Omichinski, W.M. Poindexter Kennedy, Kazuyasu Sakaguchi, Ettore Appella, Angela M. Gronenborn *Nat. Struct. Biol.* **2**, 321-333(1995)

## メラノーマにおける DGKG の生理機能

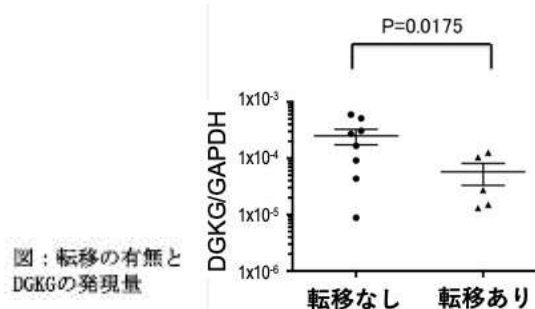
氏名：○甲斐正広、佐藤亜紀子、山本英一郎、新沼猛、北嶋洋志、鈴木拓

所属： 札幌医科大学・医学部・分子生物学講座

### 【要旨】

DGKG(ジアシルグリセロールキナーゼ)は脂質代謝酵素の一つであり、基質(ジアシルグリセロール)と産生物(ホスファチジン酸)の両セカンドメッセンジャー量を調節することにより細胞内シグナル伝達系を制御している(1)。アイソフォームの一つである DGKG(DGK $\gamma$ )は低分子量 G タンパク質 Rac1 を抑制して細胞運動を制御している(2)。最近我々は DGKG が多くの大腸がんでがん特異的に発現抑制されていることを見出し(3)、その新たな生理機能について検討を進めている。今回メラノーマにおいても DGKG の発現が抑制される可能性を見出したので、その生理的意義を明らかにすることを目的に本研究を行った。

メラノーマ検体 15 例およびコントロールとしてのホクロ検体 2 例について DGKG の発現量を測定したところ、10 例のメラノーマが極めて低い発現量を示した。さらに転移の有無が明らかにされている 13 例のメラノーマで DGKG の発現量を比較したところ、転移のあった検体で有意に DGKG が低発現であることが示された(右図)。DGKG ががん抑制的に機能している可能性が考えられる。



メラノーマ細胞株は調べた限りどれも DGKG をほとんど発現していなかったため、AKI、A2058、SKmel24 の 3 細胞株にアデノウイルスを用いて DGKG クローン（野生型 WT、不活性型 KD、常時活性化型 CA）または LacZ を過剰発現させて、フェノタイプの変化を観察した。

細胞の増殖速度にはほとんど変化が見られなかった一方、細胞遊走能・浸潤能は DGKG の発現によって大きく抑制された。驚くべきことに、この抑制効果は KD、CA どちらの変異型を発現していても観察されており、酵素活性とは無関係であることが示唆された。そこでそのメカニズムを明らかにするために、KD または CA を発現したメラノーマ細胞について発現アレイ解析を行った。KD、CA どちらを発現しても発現量が同方向に変化する遺伝子をスクリーニングしたが、予想に反して細胞運動に関連する遺伝子の発現変化は観察されなかった。その一方で NF $\kappa$ B 関連遺伝子群において、NF $\kappa$ B シグナリングを負に制御するような発現変化が見られた。現在その意義について検討中である。

### 【参考文献】

- 1) Merida I. et. al.. (2008) Biochem. J., 409, 1-18.
- 2) Tsushima S. et. al.. (2004) J. Biol. Chem., 279, 28603-28613.
- 3) Kai M. et. al.. (2017) Mol. Carcinogen., 56, 1743-1752.

## ショウジョウバエと地域食品を利用したがん予防への取り組み

氏名: ○永長一茂<sup>1,2</sup>、櫛引雅子<sup>1</sup>、白土明子<sup>3,4</sup>

所属: 弘前大学・<sup>1</sup>地域戦略研究所・食料科学研究部門、<sup>2</sup>大学院地域共創科学研究科、  
札幌医科大学・<sup>3</sup>医療人育成センター・教養教育研究部門、<sup>4</sup>大学院医学研究科・細胞分子機能学

### 【要旨】

#### 〔背景と目的〕

がん対策において、がんの予防は異常増殖能と転移能を併せ持つがん細胞の出現抑制を目的とする一次予防と、がんの早期発見を目的とする二次予防に大別される。がん細胞は主にゲノム DNA への遺伝子変異蓄積により生じるため、DNA 変異の予防、あるいは体内からの DNA 変異細胞の除去が一次予防の作用点となる。DNA 変異細胞除去機構のひとつとして細胞競合と呼ばれる現象がある。細胞競合は、性質の異なる 2 種類の細胞が隣接した際に起こり、一方の細胞がもう一方の細胞を取り除くとともに、増殖して空いたスペースを埋める。がん細胞に分化する細胞もこの仕組みで取り除かれることが考えられることから、私たちは細胞競合の促進が、がん細胞排除の新たな戦略になりうると考え研究を行ってきている。現在、地産地消型の一次予防を食事として取り入れることを目指しており、地元農水産物を中心に細胞競合促進食品の探索を行っている。本会では、その候補が見出されたので報告する。

#### 〔結果と考察〕

細胞競合の解析には、二種類の細胞が混在するモザイク動物の作製が容易なショウジョウバエがよく用いられる。本研究では、リボソームタンパク質遺伝子に変異を持つ細胞のみからなる個体内に、人為的に正常細胞を出現させることが可能なショウジョウバエを用いた。リボソームタンパク質遺伝子変異細胞は細胞競合によって取り除かれ、正常細胞に置き換わるため、細胞競合がすすむと、正常細胞の割合が高まることがわかっている。評価対象食品を含む飼料で飼育したショウジョウバエの幼虫に正常細胞を出現させ、さらに一定期間飼育を続けてから個体内の正常細胞の割合を調べた。果物、野菜、キノコ、海藻、魚介類など青森県産品を中心とした十数種類の食品に対してこれを行ったところ、複数の食品で正常細胞割合の有意な増加がみられたことから、これらの食品は細胞競合促進作用を持つことがわかった。

次に、見出された食品が多様な DNA 変異細胞に対しても機能性を発揮するかを検証した。主要な DNA 修復機構のヌクレオチド除去修復および複製後修復を抑制したショウジョウバエは、化学物質の変異原性の評価に古くから用いられている。このショウジョウバエの幼虫を、変異原物質のカルバミン酸エチルを含む飼料で飼育すると、ゲノム DNA 上にランダムに変異が導入され、変異は修復されずに残る。その結果、DNA 変異細胞の出現頻度が飛躍的に高まり、多くの個体は成虫になる前に死に至る。これらの DNA 変異細胞もリボソームタンパク質遺伝子と同様に細胞競合で取り除かれ、正常細胞に置き換わるのであれば、細胞競合活性を高めることで死にくくなるはずである。細胞競合促進作用を示した食品をカルバミン酸エチルと共に加えた飼料でこの幼虫を飼育したところ、成虫への発生頻度が有意に増加した。以上より、これらの食品には多様な DNA 変異細胞の除去を促進する作用があることが示唆された。

私たちの研究グループでは、ショウジョウバエを用いた腫瘍増殖抑制機構の解析も行っており、アポトーシス細胞の貪食に必要な貪食受容体の Integrin  $\alpha$ PS3/ $\beta$ v および Draper が腫瘍増殖に対して抑制的に働くことを示唆することを示している<sup>1,2)</sup>。現在、この作用を促進させる食品の探索を進めている。

### 【参考文献】

- 1) Zhang, M., Nagaosa, K., Nakai, Y., Yasugi, T., Kushihiki, M., Rahmakita, D., Sato, M., Shiratsuchi, A., Nakanishi, Y. (2020) Genes Cells 25, 675-684.
- 2) Rahmatika, D., Kuroda, N., Min, Z., Nainu, F., Nagaosa, K., Nakanishi, Y. (2019) Virology 528, 48-53.



## 脂質非対称性の新規調節因子 *SFK1* は細胞膜の低透過性に寄与する

氏名：○三岡哲生<sup>1</sup>、岸本拓磨<sup>2</sup>、田中一馬<sup>2</sup>

所属：<sup>1</sup> 青山学院大学・理工学部・化学・生命科学科・分子遺伝学教室

<sup>2</sup> 北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野

### 【要旨】

細胞膜の脂質二重層におけるリン脂質の非対称分布は真核生物に広く保存されている性質で、細胞極性形成や細胞内小胞輸送、アポトーシス細胞の貪食など様々な生命機能に関連することが知られています。P-type ATPase であるフリッパーゼ(flippase)という分子が PE や PS といったリン脂質を細胞質側へと動かすことで、細胞膜の脂質非対称性が維持されています。

我々は出芽酵母を用いて、細胞膜上の脂質非対称性の制御に関わる新たな分子をスクリーニングによって探索し、*SFK1* という遺伝子を同定しました<sup>1</sup>。*Sfk1* はヒトなどの高等動物にも保存されている TMEM150 ファミリーに属する細胞膜 6 回膜貫通型タンパク質ですが、細胞内機能については不明でした。flippase 欠損株では細胞膜での脂質非対称性が崩れており、この表現型が *SFK1* の過剰発現によって抑圧され、反対に *SFK1* の欠損によって非対称性がより顕著に乱れることが分かりました。蛍光標識したリン脂質の取り込み実験から、意外なことに *Sfk1* は脂質二重層間における脂質の両方向の移動 (flip と flop) を抑制する働きを持つことが示唆されました (図 1)。更に、脂質非対称性が著しく崩れている flippase と *Sfk1* の二重欠損株では細胞膜の透過性が顕著に増加しており、細胞膜の脂質非対称性の崩壊の程度と、細胞膜の透過性増加が相関していることが分かりました。細胞膜の脂質非対称性が単細胞生物である酵母においても存在している生理的意義についてはこれまでよく分かっていませんでしたが、本研究では新たな脂質非対称性の制御因子である *SFK1* の発見を契機に、細胞膜の脂質非対称性が細胞にとってのバリア機構ともいえる低透過性の維持に寄与していることを明らかにすることができました (図 2)<sup>1</sup>。

本賞受賞後の解析により、flippase の多重欠損と *Sfk1* の欠損の組み合わせが致死性をもたらすことも明らかになり、細胞膜上の脂質非対称性が生命活動の維持に必須であることも分かってきました<sup>2</sup>。

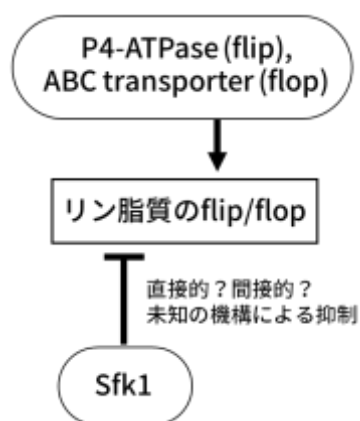


図 1: *Sfk1* はリン脂質の移動を抑制する

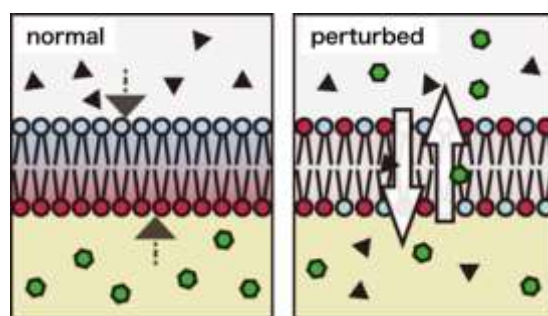


図 2: 脂質非対称性と膜透過性に関するモデル  
脂質非対称性が乱れると膜の透過性が増加し、化学物質に対して脆弱になる。

### 【参考文献】

- 1) **Mioka, T.**, Fujimura-Kamada, K., Mizugaki, N., Kishimoto, T., Sano, T., Nunome, H., Williams, D. E., Andersen, R. J., & Tanaka, K. (2018). Molecular biology of the cell, 29(10), 1203–1218.
- 2) Kishimoto, T., **Mioka, T.**, Itoh, E., Williams, D. E., Andersen, R. J., & Tanaka, K. (2021). Molecular biology of the cell, mbcE20110699.



## 線虫を用いたプレシナプス電位依存性 $\text{Ca}^{2+}$ チャンネル集積制御メカニズムの解析

氏名：○櫛引勇人<sup>1</sup>、鈴木利治<sup>1</sup>、多留偉功<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・神経科学研究室

【要旨】脳神経系は、千億ほどの神経細胞から成り、細胞間接着構造“シナプス”を介して情報伝達をおこなう。情報の出力を担うシナプス前部（プレシナプス）には、多様なタンパク質が局在し、分子間相互作用を介して情報伝達を制御する。我々はプレシナプス形成に関わる分子メカニズム解明のため、モデル動物線虫 *C. elegans* を用いた解析を進めてきた。

本講演では、我々が明らかにした電位依存性カルシウムチャンネル（voltage-gated calcium channel, VGCC）のプレシナプス集積メカニズムについて紹介する。VGCC は神経細胞の膜電位上昇に応じて、プレシナプスでの神経伝達物質の放出を局所的に駆動する。即ち VGCC は神経細胞の電気信号を化学信号に変換する、いわば情報出力のトリガー分子である。しかしながら、VGCC のプレシナプスへの集積がどのように制御されているのか、全容は未解明である。線虫は遺伝子操作が容易であり、蛍光タンパク質を用いて生体内での分子の局在を観察できる。我々はこの特性を利用し、GFP 融合 VGCC 発現線虫を用いることで、VGCC プレシナプス局在制御遺伝子の同定に成功した。

プレシナプスに局在する様々な足場タンパク質には、VGCC と結合能を有するものが複数知られている。我々はその一つ RIMB-1/RIM-binding protein に着目し、VGCC 集積への寄与を解析した。その結果、RIMB-1 の過剰発現による VGCC の集積増加を見出した。続いて、計 10 種のプレシナプス足場タンパク質と RIMB-1 の多重機能欠損線虫の解析を行い、UNC-10/RIMS が RIMB-1 と冗長的に VGCC 集積を制御することを明らかにした。更に、超解像顕微鏡観察や構造機能相関解析、薬理行動解析から、RIMB-1 は VGCC をプレシナプス内の局所に集積させることで、効率的なシナプス伝達を実現することが示唆された。一方で、VGCC 欠損線虫では RIMB-1 は正常にプレシナプスに集積できず、VGCC と RIMB-1 が双方向的にプレシナプス集積を制御し合うことが明らかとなった (1)。VGCC、RIM-binding protein、RIMS 複合体は、哺乳類のプレシナプス形成においても中心的な役割を担う。引き続き RIMB-1、UNC-10 に着目した解析を進めることで、種を越えて保存されたプレシナプス形成メカニズムの解明が期待される。

次に、我々は新たな VGCC 集積制御遺伝子を探索するため、線虫に突然変異を導入し、VGCC の集積異常を示す変異体を複数単離した。その責任遺伝子の一つとして EGL-3/proprotein convertase kexin type 2 が同定された。続いて EGL-3 による集積制御機構を明らかにするため、遺伝学的手法による解析を行なった。その結果、これまで EGL-3 の機能として知られていた神経ペプチド放出制御を介さずに、VGCC 集積が制御されていることが明らかとなった。

以上、本研究により VGCC 集積に必要な遺伝子及び分子メカニズムを複数解明できた。今後、線虫を用いた解析を進めることで、さらなるメカニズムの解明が期待される。

### 【参考文献】

- 1) Kushibiki Y., Suzuki T., Jin Y., and Taru H. (2019) J. Neurosci., 39 (44), 8617-8631.

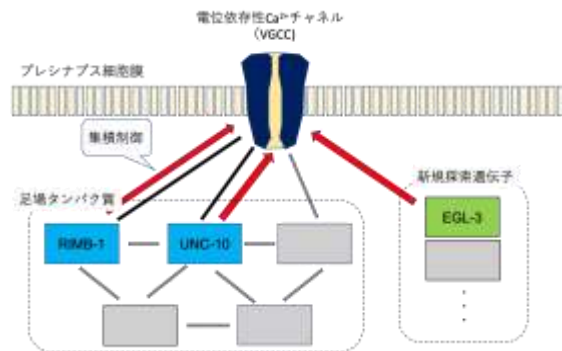


図 1 本研究で同定した VGCC 集積制御遺伝子

## 非自己成分の認識機構とその生理的意義についての研究

氏名：○近藤 豪<sup>1</sup>、丸山 健太<sup>2,3</sup>、畠山 鎮次<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学・大学院医学研究院・生化学分野・医化学教室

<sup>2</sup>生理学研究所・生体機能調節研究領域

<sup>3</sup>昭和大学・医学部・生理学講座

### 【要旨】

生体が非自己を認識するシステムは、免疫の根幹を成している。免疫系の最初の入口である自然免疫は長らく原始的な免疫システムと考えられてきたが、Toll 様受容体の発見を契機に急速に理解が進んだ。感染症における重要性はもとより、現代の人類が直面する多くの非感染性疾患においても、自己成分への応答や炎症制御というかたちで病態と密接に関わっている<sup>1</sup>。

これまでにわれわれは、生体が異物、特に核酸成分を認識した際の応答メカニズムをあきらかにしてきた<sup>2,3</sup>。最近では、腸内細菌由来の核酸成分認識がセロトニン分泌制御につながる新たな知見<sup>4</sup>を得たので、本講演で紹介したい。

近年注目されている生体の機械刺激受容メカニズムのひとつに、細胞膜の伸展に応じてカルシウムイオンを透過するイオンチャネル Piezo がある。Piezo1 は血管内皮における血流センサー、Piezo2 は痛覚神経における機械刺激センサーとしての機能がそれぞれ報告されているが、腸管上皮細胞の Piezo の役割はこれまで不明であった。そこで腸管上皮細胞特異的に Piezo1 を欠損するマウス (*Villin-Piezo1<sup>flx/flx</sup>*) を作製し解析したところ、このマウスは野生型に比べて骨形成が亢進し、骨量が増加していた。また、腸蠕動が顕著に減弱しており、腸炎誘発薬剤を投与しても大腸炎がほぼ認められなかった。遺伝子発現解析から、Piezo1 欠損腸管上皮ではセロトニン合成の律速酵素である Tph-1 の発現が低下していることを見出した。実際に *Villin-Piezo1<sup>flx/flx</sup>* マウスの血中セロトニンレベルは野生型よりも低く、さらにセロトニン持続投与により腸蠕動や骨代謝を野生型と同程度に回復させることができた。当初は Piezo1 が腸の蠕動を感知してセロトニン産生を促進していると考えられたが、意外なことに機械刺激実験では腸管上皮 Piezo1 の十分な活性化は確認できなかった。そこで腸管上皮 Piezo1 を活性化する別の因子の存在を疑い調査したところ、Piezo1 活性化には腸内細菌が必要であること、さらに腸内細菌由来の 1 本鎖 RNA が主要なトリガーであることを突き止めた。以上のことから、腸内細菌由来の 1 本鎖 RNA により活性化した Piezo1 がセロトニン合成を促し、腸の蠕動や骨代謝を制御していることがあきらかになった (図 1)。これらの結果は、「腸内細菌が宿主のセロトニン代謝を調節する」という新たな概念を提示するとともに、「腸内の核酸成分をコントロールすることが、便秘や腸炎、骨粗鬆症などの治療に役立つ可能性」を示唆している。

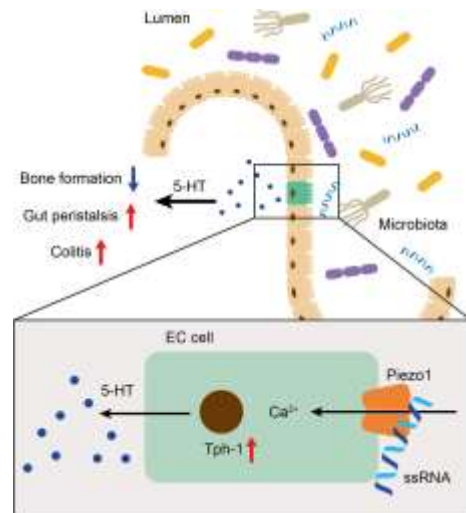


図 1 腸管 Piezo1 によるセロトニン産生制御

### 【参考文献】

- 1) **Kondo, T.**, et al. (2012). *Trends Immunol.* 33, 449–458.
- 2) **Kondo, T.**, et al. (2012). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 422, 501–507.
- 3) **Kondo, T.**, et al. (2013). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 2969–2974.
- 4) Sugisawa, E.\*, **Kondo, T.\***, et al. (2020). *Cell* 182, 609–624.e21.



## 非筋細胞ミオシン II の細胞内ダイナミクスとアイソフォーム特異的機能

氏名： ○高橋正行

所属： 北海道大学大学院・理学研究院・化学部門・生物有機化学研究室

### 【要旨】

非筋細胞ミオシン II (NMII) はアクチン細胞骨格内でアクチンフィラメントを動かす、あるいは固定することにより、細胞形態の変化と維持に重要な役割を果たす。NMII は細胞内で必要な時に必要な場所で会合し双極性のフィラメントを形成することで機能を発揮する。脊椎動物には3種類の NMII 重鎖からなるアイソフォーム (NMIIA, NMIIB, NMIIC) が存在し異なる機能を担っていることが予想されている。各アイソフォームが細胞内において、いつどこで機能できるようになるのか、すなわち、それらの細胞内動態の制御機構やアイソフォーム特異的機能の詳細は明らかになっていない。NMII は、不活性時には尾部が折り畳まれたコンパクトなコンフォメーション

(folded conformation) をとり単量体となっていることが *in vitro* での観察結果から予想されていたが (図1)、実際に細胞内で folded conformation を形成しているかは証明されていなかった。私達は、folded conformation を形成できない横紋筋のミオシンとのキメラタンパク質を作製し、その細胞内での挙動が異常になることを見出し<sup>1)</sup>、間接的にはあるが、細胞内での folded conformation の形成の重要性を明らかにした。*in vitro* の実験によって、NMIIA はアクチンフィラメントを動かすモーターとしての機能に優れ、NMIIB はアクチンフィラメントと強く結合する骨格としての機能に優れていることが予想されている (図2)。私達は、特異的 siRNA によるノックダウン細胞および CRISPR-Cas9 システムによるノックアウト細胞を用いて、NMIIA と NMIIB の細胞内での機能について検討し、以下の結果を得た。細胞質分裂時に、NMIIA は収縮環の収縮速度を促進し NMIIB は抑制していることを見出した<sup>2)</sup>。細胞の遊走時においては、NMIIA と NMIIB の両方が transverse arc と呼ばれるアクチン細胞骨格に局在することで前方に形成される平らなラメラ構造を維持していること<sup>3)</sup>、さらに、NMIIA が前方からの適切な仮足の伸展に、NMIIB は前方・後方の極性維持に関与している可能性を見出した<sup>4)</sup>。また、NMIIA と NMIIB が異なるメカニズムで微小管伸長を抑制することによって、細胞形態の安定化に関与していることを見出した<sup>5)</sup>。これらの結果から、NMIIA と NMIIB は細胞内において、それぞれの生化学的特徴を活かして異なる機能を発揮している、あるいは協同して働いて適切な機能を実現していることが考えられる。

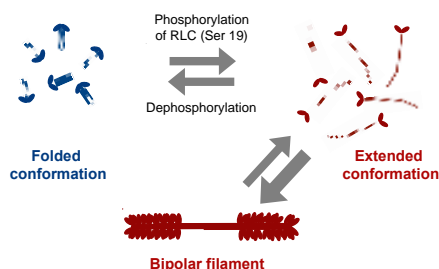


図1 NMII のコンフォメーション変化

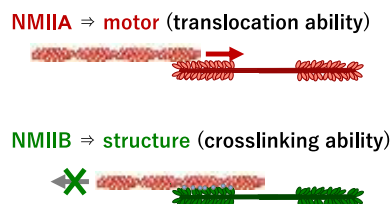


図2 NMIIA と NMIIB の生化学的特徴

### 【参考文献】

- 1) Kiboku T., Katoh, T., Nakamura A., Kitamura, A., Kinjo, M., Murakami, Y. and Takahashi M. (2013) Genes to Cells, 18, 90-109.
- 2) Yamamoto K., Otomo K., Nemoto T., Ishihara S., Haga H., Nagasaki A., Murakami Y. and Takahashi M. (2019) Exp. Cell Res., 376, 67-76.
- 3) Kuragano M., Uyeda T. Q. P., Kamijo K., Murakami Y. and Takahashi M. (2018) Mol. Biol. Cell, 29, 911-922.
- 4) Kuragano M., Murakami Y. and Takahashi M. (2018) Biochem. Biophys. Res. Commun., 498, 25-31.
- 5) Sato Y., Kamijo K., Tsutsumi M., Murakami Y. and Takahashi M. (2020) J. Biochem., 167, 25-39.

## 多細胞生物の臓器再生における毛細血管幹細胞の役割

氏名： ○川辺淳一

所属： 旭川医科大学・医学部・生化学講座

### 【要旨】

再生医学は、iPSs や体性幹細胞などの幹細胞の調達、心筋や神経細胞など特定の細胞分化調整と共に、複数の細胞種で構成される三次元構築に向けた研究展開に推移している。一方で、生体での組織の再生や、その維持の機序解明には、大きな隔たりがある。多細胞生物における臓器や組織が維持・再生する際の本質は何か、毛細血管を通じて今一度見つめ直してみる。

毛細血管は内皮チューブに周細胞(PCs)が覆う単純な構造の最小「臓器」であり、体中に分布する最大の「臓器」でもある。毛細血管は、かつて生物の全てが単細胞の時代、その住み家である原始の海のごとく、多細胞生物を構成する各細胞への栄養や酸素の供給を保証する「生命の海」としての役割をはたす。最近では幹細胞能をもつ PCs の存在が報告され、微小血管は、新しい細胞を生み出す「生命の種」としての役割も示唆されるようになってきた。

我々は、皮下脂肪や骨格筋組織など末梢組織の毛細血管 PCs の中から多分化能をもつ EphA7 陽性 PCs (Capillary stem cells; CapSCs) を見出した。CapSCs は、一部が内皮細胞に分化し自ら毛細血管様構造を構築し、また、間葉系あるいは神経系幹細胞様の胚葉を跨がる多彩な分化能を有する。マウス病態動物モデルへの CapSCs 導入実験により、下肢虚血モデルでは、高い血管新生能と共に虚血改善効果を示した。急性の骨格筋障害モデルでは、高い血管新生能と共に骨格筋線維分化能を発揮し、慢性の筋障害モデルである筋ジストロフィーへの導入により、筋組織維持・筋力改善効果を示した。CapSCs の神経分化能に関与する *Ninjurin1* を PCs 特異的に欠損誘導させたマウスを用いて、末梢組織の毛細血管内の CapSCs に高い神経分化能をもつ意義を確かめた。同マウスにおいて、坐骨神経障害後の末梢神経再生に、CapSCs によるシュワン細胞分化・成熟化が関与していることを示した。

CapSCs は、微小血管の再構築と共に、これに伴走する末梢神経の再生、さらに骨格筋など組織実質細胞の供給に寄与する多細胞生物の臓器・組織の維持や再生の上で基盤細胞である可能性があり、再生医療はもとより、再生と表裏一体である「老化」医療への応用も期待される。

### 【参考文献】

- 1) Kawabe J. EphA7+ multipotent pericytes and their roles in multicellular organisms. *Stem Cell Biology and Regenerative Medicine*. Springer Nature Book (Review) 2021; 68:189-201
- 2) Kano K, et al. EphA7(+) perivascular cells as myogenic and angiogenic precursors improving skeletal muscle regeneration in a muscular dystrophic mouse model. *Stem Cell Res*. 2020; 47:101914
- 3) Yoshida Y, et al. Capillary-resident EphA7(+) pericytes are multipotent cells with anti-ischemic effects through capillary formation. *Stem Cells Trans Med*. 2020; 9:120-130
- 4) Tomita Y, et al. *Ninjurin 1* mediates peripheral nerve regeneration through Schwann cell maturation of NG2-positive cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019; 519: 462-468.
- 5) Kabara M, et al. Immortalized multipotent pericytes derived from the vasa vasorum in the injured vasculature. A cellular tool for studies of vascular remodeling and regeneration. *Labo Invest*. 2014; 94: 1340-54.



## ケモカイン受容体 CCR5: HIV 感染と骨代謝調節をつなぐ分子シグナル

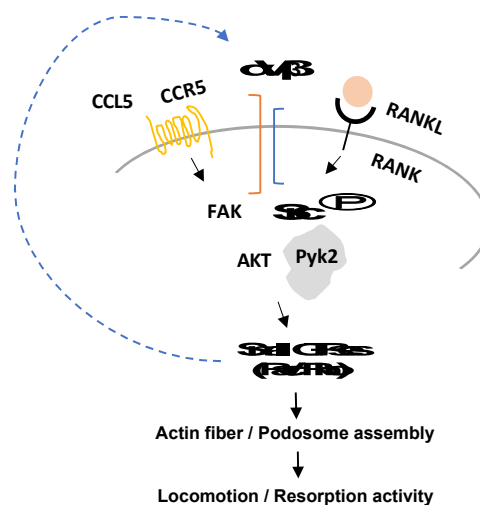
氏名： ○飯村忠浩<sup>1</sup>

所属： <sup>1</sup>北海道大学・大学院歯学研究院・薬理学教室

### 【要旨】

CCR5 はリンパ球系譜の細胞に発現するケモカイン受容体である。また、CCR5 は、HIV の共受容体であり、抗 HIV 薬の標的分子の一つである。北欧には、CCR5  $\Delta 32$  という機能喪失型の遺伝子バリエーションが高頻度で見られ、HIV 感染耐性のみならず、様々な疾患への耐性ととの相関が報告されてきた。HIV 感染者は骨量が減る傾向にあること、さらには CCR5  $\Delta 32$  保有者や抗 CCR5 薬服用患者では、骨粗鬆症やリウマチに対する耐性があるとの報告もされてきたが、その分子メカニズムは不明であった。私たちは、ヒトおよびマウスの破骨細胞は CCR5 を高発現し、CCR5 が骨吸収機能に必須であることを明らかにした (文献 1)。抗 CCR5 薬である Maraviroc は、ヒト破骨細胞の機能分化を阻害したが、ヒト骨芽細胞の分化や機能調節に顕著な影響を与えなかった。また、CCR5 欠損マウスは、破骨細胞機能が低下しており、骨粗鬆症耐性を示した。細胞機能解析やパルスウェイ解析から、CCR5 は、破骨細胞の接着や移動に必須である仮足 (ポドゾーム) の形成や、FAK/Src/Pyk2 複合体による細胞内シグナル伝達に必須であることが明らかとなった (図)。また、CCR5 のリガンドである CCL5 は、破骨細胞の FAK/Src/Pyk2 複合体を活性化し、ポドゾーム形成や骨吸収能を高めることが明らかとなった。その後、HIV は CCR5 を介して破骨細胞にも感染すること、その際にポドゾーム形成や骨吸収を促進することが報告された。これらの知見から、HIV 感染と骨吸収性疾患との関連が分子レベルで明らかになったと考えられた。

分子進化学的には、ケモカインおよびケモカイン受容体遺伝子群は、脊椎動物の進化に伴い、そのゲノム重複が顕著である。CCR5 を含む CC ケモカインは、特に、哺乳類で獲得された分子であり、哺乳類の高度な免疫機能の獲得との関連が示唆されている。また、COVID-19 のリスクバリエーションは、CCR5 遺伝子近傍の遺伝子座に集中していることが示された。これらの知見は、ケモカイン受容体遺伝子群が、哺乳類・人類と病原体との共進化の標的であることを示唆しており、今後、ケモカイン受容体を中心とした、様々な疾患の分子病態の解明は重要であると考えられた (文献 2,3)。



(図) 破骨細胞の機能調節における CCR5 シグナル

### 【参考文献】

- 1) Lee JW, Hoshino A, Inoue K, Saitou T, Uehara S, Kobayashi Y, Ueha S, Matsushima K, Yamaguchi A, Imai Y, Iimura T. (2017) Nat Commun. 8(1):2226. doi: 10.1038/s41467-017-02368-5
- 2) Lee JW, Lee IH, Sato T, Kong SW, Iimura T. (2021) Dev Growth Differ. 63(3):219-227. doi: 10.1111/dgd.12717
- 3) Lee JW, Lee IH, Iimura T, Kong SW. (2021) Bone Res. 9(1):11. doi: 10.1038/s41413-020-00134-w.

## 細胞空間の非対称パターンニングを脱構築と再構築で理解する

氏名：○茂木文夫

所属：北海道大学・遺伝子病制御研究所・発生生理学分野

### 【要旨】

多細胞生物が分化・機能の多様性を得るには、個々の細胞が空間的な非対称性パターン「細胞極性」を獲得する必要がある。細胞極性の欠損は、神経変性・癌化などを引き起こすことから、細胞極性の理解は様々な疾患の予防・治療に必須と考えられる。本セミナーでは、線虫 *C. elegans* をモデル生物として、受精卵が非対称性を獲得する分子メカニズムの理解（非対称パターン化の脱構築）と、受精卵の非対称パターンを人為的に再構成するシステム（非対称パターン化の再構築）について紹介する。特に、細胞極性の獲得に向けた機械的力刺激の非対称化とその役割について議論したい。受精卵で明らかになった「非対称パターン化」の基本原理が、多細胞ステージにおいて再活用される仕組みについても考察する。

### 【参考文献】

- 1) Lim YW, Wen FL, Shanker P, Shibata T, Motegi F. (in press) Cell Reports.
- 2) Zhao P, Teng X, Nishikawa M, Wohland T, Toyama Y, Motegi F. (2019) Dev. Cell. 48: 631-645.
- 3) Ravikrishna R, Han Z, Zhen Z, Kanchanawong P, Motegi F. (2018) Nat. Chem. Biol. 14: 917-927.
- 4) Zhen Z, Lim YW, Peng Z, Kanchanawong P, Motegi F. (2018) J. Cell Sci. 130(24): 4200-4212.
- 5) Wang SC, Low T, Nishimura Y, Gole LCM, Yu W, Motegi F. (2017) Nat. Cell Biol. 19: 988-995.





## 狂犬病ウイルス P 蛋白質による JAK-STAT シグナル阻害機構の解明

氏名：○杉山葵<sup>1</sup>，南未来<sup>1</sup>，野間井智<sup>2</sup>，蔣欣欣<sup>2</sup>，Paul R. Gooley<sup>3</sup>，Gregory W. Moseley<sup>4</sup>，  
前仲勝実<sup>2</sup>，姚閔<sup>1</sup>，尾瀬農之<sup>1,2,5</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学・大学院生命科学院・X線構造生物科学研究室

<sup>2</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・生体分子機能学研究室

<sup>3</sup>Department of Biochem. and Mol. Biol., Bio 21 Mol. Sci. and Biotech. Institute, Univ. of  
Malborne

<sup>4</sup> School of Biomed. Sci., Monash Univ.

<sup>5</sup> JST さきがけ

### 【要旨】

狂犬病は、狂犬病ウイルス (RABV) が引き起こす人獣共通感染症である。RABV は、ラブドウイルス科リッサウイルス属に分類される (-)一本鎖 RNA ウイルスである。すべての食肉目に感染する非常に広い宿主域を持つうえ、発症後の治療法は確立されておらず、発症すればほぼ 100% が死に至る。そのため、近年においてもすべての大陸に渡って年間約 55,000 人の死者を出している。RABV の感染を感知した宿主細胞は、自然免疫経路により JAK-STAT 経路を活性化させ、RABV の排除を試みる。一方、RABV ゲノム中にコードされる P 蛋白質 (RVPC) は、STAT1 との相互作用により JAK-STAT 経路を不活化し、免疫逃避により自らの増殖に有利な環境へと誘導する (図 1) <sup>1</sup>。しかし、STAT1 と RVPC の詳細な結合構造は明らかになっておらず、STAT1 を RVPC が認識、不活化する機構は不明である。私達は RABV が宿主の JAK-STAT 経路を阻害する仕組みを解明するため、STAT1 や RVPC を高純度で精製し、相互作用解析を始めとした分子レベルでの研究をおこなってきた。まず、両者の相互作用部位の特定をおこなうことが重要であるため、STAT 分子のリン酸化型や N 末端、C 末端領域欠損型、DNA 結合型を作製し、STAT1 上の、P 蛋白質との相互作用部位を絞り込んだところ、RVPC と STAT1 における相互作用の  $K_D$  値は 18 nM であった。さらに、細胞を用いた先行研究 <sup>2</sup> で STAT1 認識部位と予想されていた、RVPC の疎水性パッチに位置する W265 に関して、構造学的解析 <sup>3</sup> や変異体 W265G を用いた STAT1 との相互作用解析をおこなった。その結果、両者の結合には、RVPC の W265 と、STAT1 の複数の領域との相互作用が重要であることが分かった。

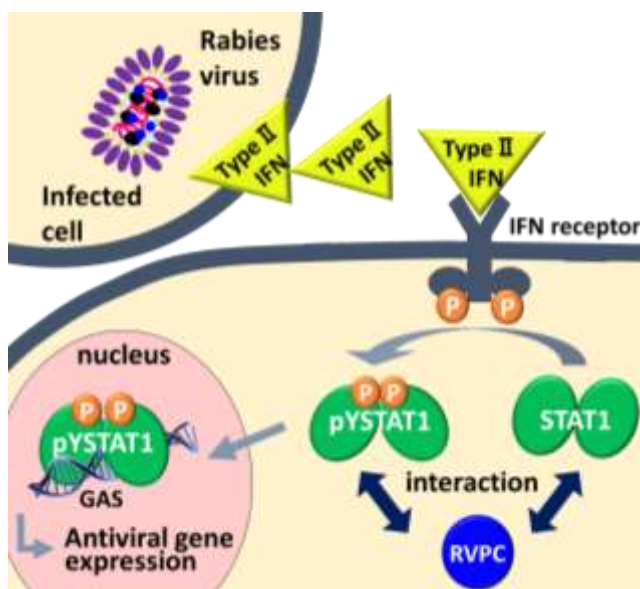


図 1 RVPC の STAT1 阻害機構

### 【参考文献】

- 1) Vidy A. et al. (2005) J. Virol., 79, 14411-14420.
- 2) Wiltzer L. et al. (2014) JID., 209, 1744-53.
- 3) Sugiyama A. et al. (2020) BBRC., 529, 507-512.

## 犬ジステンパーウイルスによる細胞侵入

氏名：○福原秀雄<sup>1</sup>、湯本航平<sup>2</sup>、酒匂 幸<sup>3</sup>、橋口隆生<sup>4</sup>、竹田 誠<sup>5</sup>、尾瀬農之<sup>6</sup>、前仲勝実<sup>1,2</sup>

所属：<sup>1</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・創薬科学研究教育センター

<sup>2</sup>北海道大学・大学院薬学研究院・生体分子機能学研究室

<sup>3</sup>九州大学・生体防御医学研究所

<sup>4</sup>京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・ウイルス制御分野

<sup>5</sup>国立感染症研究所・ウイルス第三部

<sup>6</sup>北海道大学・先端生命科学研究院

### 【要旨】

麻疹ウイルスをはじめとするモルビリウイルスは、SLAM や Nectin4 を受容体として標的細胞に吸着し、ウイルスエンベロープと細胞膜との膜融合によって細胞内へ侵入する。モルビリウイルスは、エンベロープ表面に二種類の糖タンパク質、H および F タンパク質を有しており、これらがそれぞれ受容体結合と膜融合の機能を担う。モルビリウイルス属の細胞侵入機構についてはヒトを宿主とする麻疹ウイルスについて最も研究がなされ、H および F タンパク質いずれも結晶構造が報告されている。しかしながら、結晶中において麻疹ウイルス H タンパク質の構造は受容体結合による変化が見られず、H タンパク質と受容体の結合が F タンパク質による膜融合を惹起する機構は未だ不明である。

我々は、麻疹ウイルスより広い宿主域をもつ犬ジステンパーウイルス (Canine distemper virus ; 以下 CDV) の H タンパク質 (CDV-H) について、受容体との結合を担う Head ドメインの結晶構造解析をおこなった。CDV-H は麻疹ウイルスと同じく、結晶中で二量体を形成していたが、これを高速原子間力顕微鏡で観察したところ、安定な二量体構造をとるというこれまでの予想に反して、溶液中で結合と解離を繰り返していることが明らかとなった。さらに、二量体の二回回転対称軸に沿ってシステイン変異を導入すると、膜融合が著しく阻害された。これらの結果はモルビリウイルスで受容体結合によって引き起こされる H タンパク質の二量体の解離が膜融合のトリガーである可能性を示唆している。

## 感染症の理解と対策に向けたリボソームのクライオ電子顕微鏡構造解析

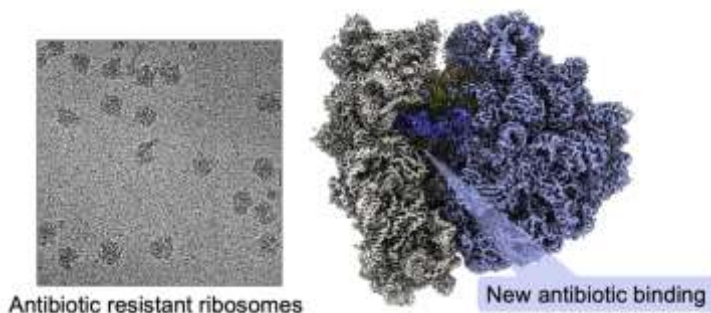
氏名：○横山武司<sup>1,2</sup>

所属：<sup>1</sup>東北大学・大学院生命科学研究科・応用生命分子解析分野

<sup>2</sup>理化学研究所・生命機能科学研究センター（BDR）

### 【要旨】

遺伝子発現の基本原則であるセントラルドグマにおいて、mRNA にコードされた遺伝情報は、リボソームを中心とした翻訳システムにより、正確にアミノ酸の配列へと変換され、機能分子であるタンパク質が合成される。直径 30nm ほどの超分子複合体であるリボソームは、外側を多数のタンパク質が取り囲むが、中心領域は RNA で構成される RNA を基本骨格としたマシナリーである。生命においてリボソームは必須であることから、感染症の原因となるウイルスは巧みにこのシステムを利用する。本発表ではまずウイルスがリボソームを利用する仕組みの一例をご紹介します。C 型肝炎ウイルス（HCV）は自身の mRNA 上の 5' UTR に二次構造を組む領域（Internal ribosome entry site, IRES）を有しており、宿主の翻訳システムを乗っ取る際に利用する。これまで、この HCV IRES による翻訳過程は、ヒトの翻訳システムを開始過程から利用するモデルが提唱されて来た。しかしながら、ヒトの再構成型の無細胞翻訳系を駆使して、HCV IRES RNA を添加した試料をクライオ電子顕微鏡単粒子解析を行うことで、HCV は翻訳途中のリボソームをも標的とすることが可能であることが明らかとなった。さらに、一度ヒトのリボソームを乗っ取った HCV IRES RNA は伸長過程のリボソームと共存可能であることが明らかになった。これらの知見を基に新たな翻訳乗っ取りシステムのモデルを提唱した<sup>1</sup>。2 つ目のトピックとして、病原性細菌のリボソームを標的とした新規抗菌薬の開発についてご紹介したい。既存の抗菌薬に耐性を持つ「多剤耐性菌」の出現は医療の現場で重大な問題となっている。近年症例数は飛躍的に増えており、何も対策を行わないと 2050 年にはがんによる死者数を上回るとされている。そのため、多剤耐性菌の感染拡大対策は重要な課題である。抗菌薬がどのようにリボソームに作用し翻訳に影響を与え、またどのように耐性を獲得するのかを明らかにすることは、多剤耐性菌における感染症対策において重要である。そこで本発表では、クライオ電子顕微鏡単粒子解析を用いて、リボソームに結合した抗菌薬の可視化と生化学的な機能解析により明らかになった、新規抗菌薬の作用機序についてもご紹介する（図）。



### 【参考文献】

- 1) Yokoyama T., et al. (2019) Mol. Cell., 74, 1205-1214.

図. 薬剤耐性型リボソームの電子顕微鏡像とリボソーム立体構造上での新規抗菌薬結合の可視化

## N 結合型糖鎖の統合グライコミクスによる小胞体ストレスの定量的な評価

氏名：○藤谷直樹<sup>1</sup>、有木茂<sup>1,2</sup>、長谷川喜弘<sup>1,3</sup>、上原康昭<sup>1,3</sup>、齋藤充史<sup>3</sup>、高橋素子<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>札幌医科大学・医学部・医化学講座

<sup>2</sup>札幌医科大学・医療人育成センター・教養教育研究部門・化学教室

<sup>3</sup>札幌医科大学・医学部・呼吸器アレルギー内科学講座

### 【要旨】

小胞体 (ER) ストレスは、正しく立体構造を形成しなかったタンパク質が ER 内腔に過剰に蓄積する現象であり、神経変性疾患や炎症性疾患、さらにがんなどの様々な疾患の原因となることが知られている。ER ストレスは多くの場合、ER ストレス応答 (UPR) 関連タンパク質の活性化や、ER に局在するシャペロン群の発現量の変化をマーカーとして検出される。しかし、ER ストレス条件下において、必ずしもすべてのマーカー分子の変化が検出されるとは限らず、また、「どの程度のストレス状態か」といった、定量的なストレスの表現は現状では難しい。

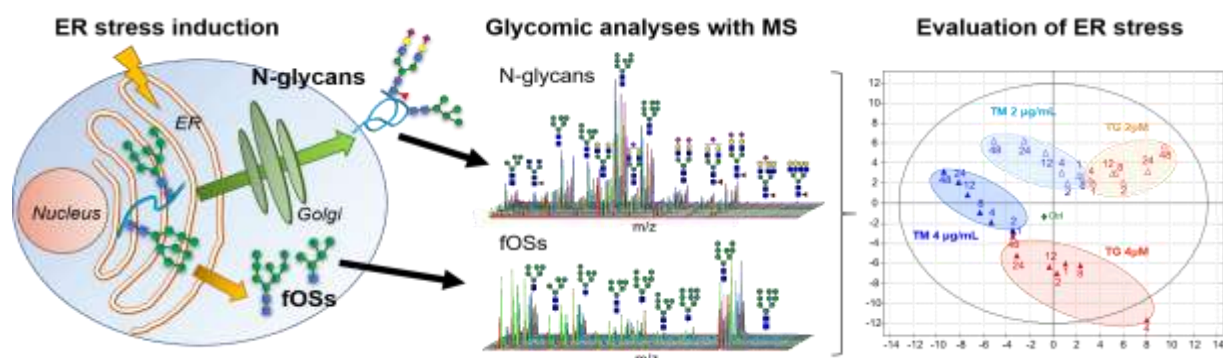


図1 本研究の概念図

本研究では、①半数程度のタンパク質はN結合型糖鎖修飾を受けること、②糖鎖修飾はERで開始されることから、N結合型糖鎖の生合成経路の追跡はERの状態を反映するレポーターとなり得ることに着目し、ERストレス条件下におけるN結合型糖鎖および生合成の過程で産出される遊離糖 (free oligosaccharides; fOSs) の構造解析を通して、ストレスの定量的な評価方法の確立を目指した (図1)。モデル細胞としてのHeLa細胞に対し、ツニカマイシン (TM) およびタプシガルギン (TG) を用いてERストレスを誘導し、N結合型糖鎖とfOSsの経時的な構造解析を質量分析法 (MS) によって行った。TMはN結合型糖鎖合成阻害剤でもあるためN結合型糖鎖は経時的に減少したが、fOSsは一過性に増加する様子が観察された。TG処理群では、高マンノース型糖鎖の著しい増加が観察され、ERにおける糖タンパク質の蓄積が示唆された。またfOSsの顕著な増加も認められ、ERADなどによる糖鎖の分解の亢進が示唆された。さらにTG処理では、N結合型糖鎖総量の顕著な増加から一転して、コントロール細胞と同程度にまで総量が急減する様子が観察された。これは、機能不全ERの選択的な排除機構であるER-phagyの様子を糖鎖の観点から定量的に捉えた可能性がある。N結合型糖鎖とfOSsの定量的な構造解析結果を統合し、主成分分析や階層クラスター解析に供した結果、経時的なストレスの亢進が表現され、また、定性的なマーカーでは不可能であるERストレスの原因別に細胞がクラスター化された。糖鎖構造解析を通じたN結合型糖鎖の生合成経路の追跡は、ERストレスを検出するための動的な指標を提供し、細胞診技術の1つとして成熟されることが期待される。

### 【参考文献】

1) Fujitani N., Ariki S., Hasegawa Y., Uehara Y., Saito A., and Takahashi M. (2021) *Biochemistry*, in press.





日本生化学会北海道支部第 58 回例会 事務局