

O R G

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

オルガネラの  
接触場の形成機構と  
破綻による疾患



ORGANELLA

Tokyo University of  
Pharmacy and  
Life Sciences

Newsletter Vol.1

領域番号：S1411014（平成26年度～30年度）

領域代表：柳 茂

L L A



私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

## オルガネラの 接触場の形成機構と 破綻による疾患



領域代表者  
柳 茂

このたび私が代表を務めます“オルガネラの接触場の形成機構と破綻による疾患”が平成26年度の私立大学戦略的研究基盤形成（文部科学省）に採択されました。

生命の基本単位である細胞には、膜で囲まれたさまざまな細胞内小器官（オルガネラ）が存在し、異なるオルガネラの間で相互作用をしながら連携した機能を発揮しています。お互いのコミュニケーションを効率よく行うためには、伝えるべき情報を分散させずに集約し、近接した場所で受け渡すことが必要であり、このような機能を発揮していると想定される生体膜の局所場の生理的的重要性が示唆されています。なかでも、小胞体とミトコンドリアの接触領域（Mitochondria-associated membrane：MAM）は、効率的なカルシウムの受け渡しや脂質代謝の制御に重要な役割をすることが知られていましたが、近年、MAM がミトコンドリアの分裂を制御していること、アポトーシスやオートファゴソームの形成場であること、細胞増殖・代謝調節・炎症のシグナル伝達の間であることなど、驚くべき知見が次々と発表され、MAMの新たな機能が注目されています。さらに、MAMの形成異常や破綻によってアルツハイマー病、心疾患、癌、抗ウイルス免疫応答の不全など様々な病態と密接に関与していることが報告され、細胞生物学分野のみならず医学分野における病態の理解や MAM を標的にした新たな治療開発においても MAM 研究の推進が急務となっています。

このような状況下において MAM に関して先駆的な研究を進めている本学生命科学部の研究者を中核としてさまざまな専門分野の研究者と連携しながらオルガネラ接触場の形成機構の解明に挑みます。本研究は、「オルガネラ局所場の構築原理の解明」という学問的意義と、「MAM 関連疾患の理解」という医学的意義を有しており、多くの分野への波及効果をもたらすことが期待されます。また、本研究を通して、この重要な研究の中心となる次世代研究者の育成を目指しています。

# 目次

P.1 領域代表ごあいさつ

P.2 研究目的

P.4~9 基盤解明グループ  
研究者活動報告



柳 茂

東京薬科大学 生命科学部  
分子生化学研究室・教授

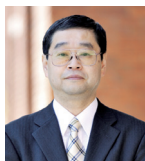
P.4



長島 駿

東京薬科大学 生命科学部  
分子生化学研究室・助教

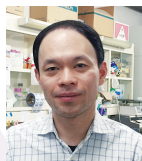
P.7



多賀谷 光男

東京薬科大学 生命科学部  
分子細胞生物学研究室・教授

P.5



新崎 恒平

東京薬科大学 生命科学部  
分子細胞生物学研究室・助教

P.8



谷 佳津子

東京薬科大学 生命科学部  
細胞情報医学研究室・教授

P.6



馬場 崇

東京薬科大学 生命科学部  
細胞情報医学研究室・助教

P.9

P.10~13 疾患解明グループ  
研究者活動報告



深見 希代子

東京薬科大学 生命科学部  
ゲノム病態医学研究室・教授

P.10



渡部 徹郎

東京薬科大学 生命科学部  
腫瘍医学研究室・教授

P.12



田中 正人

東京薬科大学 生命科学部  
免疫制御学研究室・教授

P.11



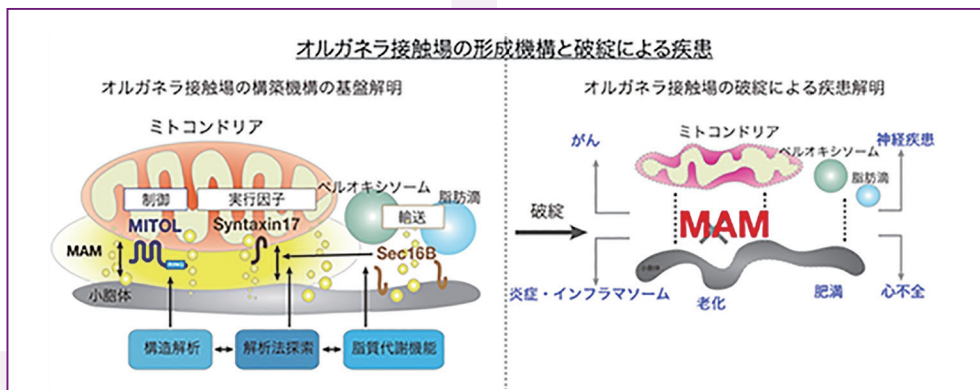
橋本 吉民

東京薬科大学 生命科学部  
細胞制御医学研究室・助教

P.13

## オルガネラ接触場の形成機構と破綻による疾患

細胞には、膜で囲まれたさまざまな細胞小器官・オルガネラが存在し、異なるオルガネラの間で相互作用をしながら連携して機能を発揮している。オルガネラ間のコミュニケーションを効率よく行うためには、情報を集約して受け渡す必要があり、この情報交換の場として異なるオルガネラが直接接触する領域の重要性が指摘されている。このようなオルガネラ接触場の中で、近年特に注目を浴びているのは、ミトコンドリアと小胞体が接する領域（MAM：mitochondria-associated membrane）である。これまで MAM は脂質代謝やカルシウムの受け渡しの場と考えられていたが、近年になって、細胞増殖、細胞死、オートファジーといった多彩な現象に関与することが報告され、さらに、その機能異常と疾患との関連性が明らかになりつつある。本研究では、研究参加者らが発見した MAM 機能を司るタンパク質を足がかりに、MAM の構築と機能を分子レベルで解明し、MAM 機能の破綻による疾患を検証する。本研究期間の間に、オルガネラ局所場の研究を世界的にリードする組織作りを進め、将来的に MAM を標的にした治療法開発を推進できる組織としての基盤を構築する。



A C T I V I T Y R E P O R T

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

オルガネラの  
接触場の形成機構と  
破綻による疾患

MITOL による MAM 制御機構と関連疾患の解明



東京薬科大学 生命科学部  
分子生化学研究室・教授

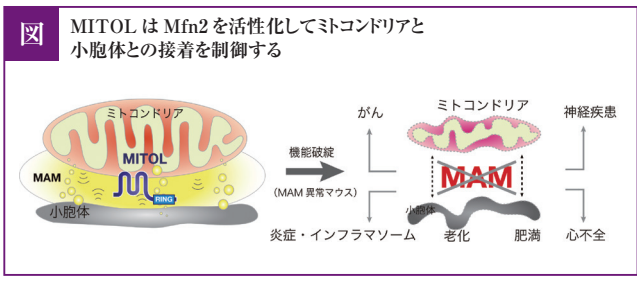


研究の要旨

私たちは、ミトコンドリアユビキチンリガーゼである MITOL を同定し、MITOL が Mitofusin-2 を介してミトコンドリアと小胞体の接着 (MAM) を制御していることを世界で初めて明らかにした。MITOL の機能解析を通してオルガネラ接触場の形成と制御機構の解明を目指す。また、MITOL 欠損マウスを用いて神経変性疾患、心不全、がんにおける MAM の機能と破綻による病態との関連を検証する。

研究の概要

真核細胞内の様々なオルガネラには固有のタンパク質が存在し、それらが機能することで、細胞に必要な物質とエネルギーが産生されている。種々のオルガネラは、独自の機能を発揮すると共に、オルガネラ間で情報を交換し、連携して細胞の維持、増殖、分化を成し遂げている。このオルガネラ間の情報交換には、異なるオルガネラが直接接触する場である“オルガネラ接触場”が重要な役割を担っている。特に小胞体とミトコンドリアの接触領域 (Mitochondria-associated membrane : MAM) は、効率的なカルシウムの受け渡しや脂質代謝の制御に重要な役割をすることが知られていたが、近年、MAM がミトコンドリアの分裂を制御していること (Science 2012)、アポトーシスやオートファゴソームの形成場であること (Nature 2013)、細胞増殖や代謝調節のシグナル伝達の間であること (PNAS 2013) などの驚くべき知見が次々と発表され、MAM の新たな機能が注目されている。さらにアルツハイマー病では、MAM の過形成によるミトコンドリアストレスが病態を増悪させていることが指摘されている。このように MAM 形成異常や破綻が、アルツハイマー病のみならず心疾患、抗ウイルス免疫応答の不全等の様々な病態と密接に関連していることが報告され、医学分野における病態の理解や新たな治療開発においても MAM 研究の推進が急務となっている。このような状況下において、私たちは、ミトコンドリアユビキチンリガーゼである MITOL を同定し、MITOL が Mitofusin-2 を介して MAM を制御していることを世界で初めて明らかにした (Mol. Cell 2013)。MAM 構築の調節因子として機能する MITOL を足がかりとして MAM 機能を解析することによって、オルガネラ接触場の形成と制御機構を多角的に理解することが期待される。(下図)。本研究は、さまざまな病態の理解に貢献し、MAM を標的とした新たな治療法開発の基盤的研究となることが期待される。



関連論文

1. Sugiura, A., Nagashima, S., Tokuyama, T., Amo, T., Matsuki, Y., Ishido, S., Kudo, Y., McBride, H.M., Fukuda, T., Matsushita, T., Inatome, R., and \*Yanagi, S. (2013) MITOL regulates endoplasmic reticulum-mitochondria contacts via Mitofusin2. *Molecular Cell*. 51:1-15. (査読有)
2. Yonashiro, R., Kimijima, Y., Shimura, T., Kawaguchi, K., Fukuda, T., Inatome, R., and \*Yanagi, S. (2012) Mitochondrial ubiquitin ligase MITOL blocks S-nitrosylated MAP1B-light chain 1-mediated mitochondrial dysfunction and neuronal cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 109:2382-2387. (査読有)
3. Sugiura, A., Yonashiro, R., Fukuda, T., Matsushita, N., Nagashima, S., Inatome, R., and \*Yanagi, S. (2011) A mitochondrial ubiquitin ligase MITOL controls cell toxicity of polyglutamine-expanded protein. *Mitochondrion*. 11:139-146. (査読有)
4. Yonashiro, R., Sugiura, A., Miyachi, M., Fukuda, T., Matsushita, N., Inatome, R., Ogata, Y., Suzuki, T., Dohmae, N., and \*Yanagi, S. (2009) Mitochondrial ubiquitin ligase MITOL ubiquitinates mutant SOD1 and attenuates mutant SOD1-induced ROS generation. *Molecular Biology of the Cell*. 20:4524-4530. (査読有)
5. Yonashiro, R., Ishido, S., Kyo, S., Fukuda, T., Goto, E., Matsuki, Y., Ohmura-Hoshino, M., Sada, K., Hotta, H., Yamamura, H., Inatome, R., and \*Yanagi, S. (2006) A novel mitochondrial ubiquitin ligase plays a critical role in mitochondrial dynamics. *EMBO Journal*. 25:3618-3626. (査読有)

## MAMに存在する syntaxin17 の機能と関連疾患の解明



東京薬科大学 生命科学部  
分子細胞生物学研究室教授

多賀谷 光男



Tokyo University of  
Pharmacy and  
Life Sciences

### 研究の要旨

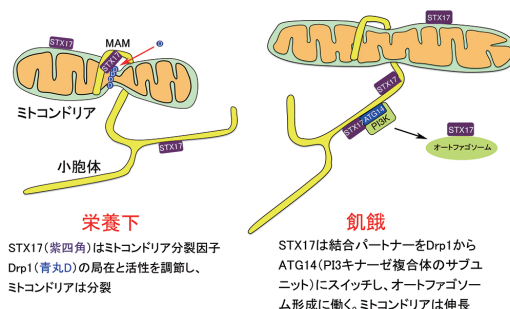
小胞体は様々なサブドメインを有するが、ミトコンドリアと接触する小胞体領域は MAM (mitochondria-associated membrane) と呼ばれている。MAM はカルシウムを介してミトコンドリア機能を調節し、またミトコンドリアと協調して脂質合成に関与することが知られていたが、近年、小胞体-ミトコンドリア接触部位は様々な重要な細胞機能を司る「場」であることが明らかとなりつつある。さらに、神経変性疾患の発症との関連も指摘されている。本研究では、小胞体-ミトコンドリア接触部位における syntaxin17 の役割および MAM 関連疾患への関与を検証する。

### 研究の概要

「細胞内発電所」であるミトコンドリアは DNA を持ち、半自立的に機能しているが、その働きは小胞体によって調節されている。ミトコンドリアと接触する小胞体領域である MAM は、カルシウムを放出してミトコンドリアの TCA サイクルを活性化し、またミトコンドリアと協調して脂質合成を行っている。近年、小胞体-ミトコンドリア接触部位はカルシウムの受け渡しや脂質合成に留まらず、様々な生理現象に関わっていることが判明しつつある。例えば、飢餓によって誘導されるオートファジー（自食作用）を司るオートファゴソームや、炎症性サイトカインであるインターロイキン  $1\beta$  の産生を司るインフラマソームは、小胞体-ミトコンドリア接触部位において形成される。また、従来、細胞膜に多く存在すると言われていたアルツハイマー病と関連する  $\gamma$ -セクレターゼは、MAM により多く存在し、MAM 機能の変化がアルツハイマー病の発症に関わっているという説が提唱されている。

syntaxin17 は膜融合を触媒する SNARE 分子の一つであるが、近年、このタンパク質がオートファゴソームとリソソームの融合に関与することが報告された。さらに最近、MAM においてオートファゴソーム形成にも関与することが示されている。オートファゴソーム形成においては、syntaxin17 は膜融合因子として働くのではなく、MAM においてホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ複合体のサブユニットである ATG14 の結合パートナーとして働く。我々は、栄養状態において syntaxin17 は膜融合活性非依存的にミトコンドリアの分裂を促進していることを見出した。また syntaxin17 が脂肪滴形成に関与し、さらにパーキンソン病関連タンパク質と相互作用していることも明らかにしている。これらの知見を基に、本研究では、小胞体-ミトコンドリア接触部位における syntaxin17 の役割および syntaxin17 と MAM 関連疾患との関わりを解明する。

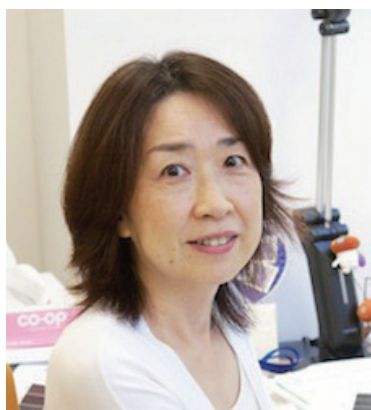
図 小胞体-ミトコンドリア接触部位における syntaxin17 の役割



### 関連論文

1. Noda C, Kimura H, Arasaki K, Matsushita M, Yamamoto A, Wakana Y, Inoue H, \*Tagaya M. (2014) Valosin-containing protein-interacting membrane protein (VIMP) links the endoplasmic reticulum with microtubules in concert with cytoskeleton-linking membrane protein (CLIMP)-63. *Journal of Biological Chemistry*. 289:24304-24313. (査読有)
2. \*Tagaya M, Arakaki K, Inoue H, Kimura H. (2014) Moonlighting functions of the NRZ (mammalian Dsl1) complex. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2:25. (査読有)
3. He S, Ni D, Ma B, Lee JH, Zhang T, Ghozalli I, Pirooz SD, Zhao Z, Bharatham N, Li B, Oh S, Lee WH, Takahashi Y, Wang HG, Minassian A, Feng P, Deretic V, Pepperkok R, Tagaya M, Yoon HS, \*Liang C. (2013) PI(3)P-bound UVRAG coordinates Golgi-ER retrograde and Atg9 transport by differential interactions with the ER tether and the Beclin1 complex. *Nature Cell Biology* 15:1206-1219. (査読有)
4. Arasaki K, Takagi D, Furuno A, Sohda M, Misumi Y, Wakana Y, Inoue H, \*Tagaya M. (2013) A new role for RINT-1 in SNARE complex assembly at the trans-Golgi network in coordination with the COG complex. *Molecular Biology of the Cell*. 24:2907-2917. (査読有)
5. Wakana Y, Villeneuve J, van Galen J, Cruz-Garcia D, Tagaya M, \*Malhotra, V. (2013) Kinesin-5/Eg5 is important for transport of CARTS from the trans-Golgi network to the cell surface. *Journal of Cell Biology*. 202:241-250. (査読有)

## MAM 形成における Sec16B タンパク質の役割の解析



東京薬科大学 生命科学部  
細胞情報医科学研究室・教授

谷 佳津子

Tokyo University of  
Pharmacy and  
Life Sciences

### 研究の要旨

小胞体は多機能なオルガネラであり、多くの機能ドメイン構造を持つ。ドメインの構築には適切なタンパク質および脂質の局在化が不可欠である。本研究では、小胞体のドメイン形成という観点から、MAM 形成に関わるタンパク質輸送およびリン脂質代謝に関して解析を行う。

### 研究の概要

小胞体は分泌経路のスタート地点であり、分泌型タンパク質は小胞体に取り込まれたのち、ゴルジ体を経て細胞膜へと輸送される。また小胞体はミトコンドリア、ペルオキシソーム、脂肪滴などの分泌経路以外のオルガネラとも近接あるいは接触をもち、それらの形成・機能に寄与する。小胞体は極めて多機能なオルガネラであり、それゆえ連続した膜構造を保ちながら、様々な機能ドメインをもつ。

生体膜上のドメインの構築には適切なタンパク質および脂質の局在化が不可欠である。我々はこれまで、分泌輸送に関わる小胞体ドメインである ER exit site の構築に関して解析を行ってきた。そしてその調整に関わる因子として p125/Sec23IP と Sec16A を発見した。さらに最近、動物固有のタンパク質である Sec16B が小胞体からペルオキシソームへの輸送に働くこと、また膜融合に働く SNARE タンパク質のひとつである Syn18 が粗面小胞体と滑面小胞体の統合に重要なことを報告した。本研究では、これらのタンパク質の機能解析を中心に、小胞体のドメイン形成という観点から MAM 形成機構を解析する。小胞体内でのタンパク質輸送およびリン脂質代謝に関して解析を行う。

### 関連論文

1. Doi H, Ushiyama M, Baba T, **Tani K**, Shiina M, Ogata K, Miyatake S, Fukuda-Yuzawa Y, Tsuji S, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Ikeda S, Tanaka F, Matsumoto N, \*Yoshida K. (2014) Late-onset spastic ataxia phenotype in a patient with a homozygous DDHD2 mutation. *Scientific Reports*. 4: 7132
2. Yonekawa S, Furuno A, Baba T, Fujiki Y, Ogasawara Y, Yamamoto A, Tagaya M, \***Tani K**. (2011) Sec16B is involved in the endoplasmic reticulum export of the peroxisomal membrane biogenesis factor peroxin 16 (Pex16) in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108:12746-12751
3. \***Tani K**, Tagaya M, Yonekawa S, Baba T. (2011) Dual function of Sec16B: Endoplasmic reticulum-derived protein secretion and peroxisome biogenesis in mammalian cells. *Cell Logist*. 1:164-167
4. Arimitsu N, Kogure T, Baba T, Nakao K, Hamamoto H, Sekimizu K, Yamamoto A, Nakanishi H, Taguchi R, Tagaya M, \***Tani K**. (2011) p125/Sec23-interacting protein (Sec23ip) is required for spermiogenesis. *FEBS Letter*. 585:2171-21767
5. Iinuma T, Aoki T, Arasaki K, Hirose H, Yamamoto A, Samata R, Hauri HP, Arimitsu N, Tagaya M, \***Tani K**. (2009) Role of syntaxin 18 in the organization of endoplasmic reticulum subdomains. *Journal of Cell Science*. 122:1680-1690

## MITOL 欠損マウスの解析



東京薬科大学 生命科学部  
分子生化学研究室・助教

長島 駿

ORGANELLA  
Tokyo University of  
Pharmacy and  
Life Sciences

### 研究の要旨

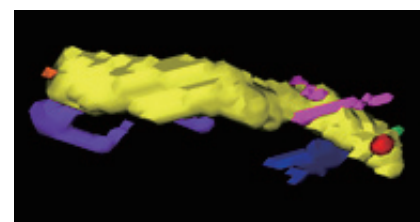
ミトコンドリアはエネルギーを産生する重要な細胞小器官であり、ミトコンドリアの機能を維持するために様々な機構でミトコンドリアの品質管理が行われている。近年、正常なミトコンドリアの機能を保つために小胞体との接着を介した物質のやりとりが重要であることが示唆されている。本研究はミトコンドリアと小胞体の接着を制御するミトコンドリアユビキチンリガーゼ MITOL 欠損マウスの解析を通してミトコンドリアと小胞体の接着の様式および機能の解明を行う。

### 研究の概要

ミトコンドリアはエネルギーを産生する重要な細胞小器官であるが、ミトコンドリアの機能を維持するために他のオルガネラとの相互作用が必要であることが明らかとなりつつある。特に、ミトコンドリアと小胞体の接着点である mitochondria-associated ER membrane (MAM) がミトコンドリアのダイナミクス、アポトーシス、オートファジーなどの様々な機構に関与することが明らかとなり、注目を集めている。この MAM 形成機構のひとつとして Mitofusin2 (Mfn2) が関与する。我々はミトコンドリアの外膜に局在するユビキチンリガーゼ MITOL が Mfn2 を介して MAM 形成を制御することを報告した。MITOL はミトコンドリアと小胞体の接着点を含むミトコンドリアダイナミクスに重要であり、MITOL の異常はミトコンドリアに機能異常を引き起こす。我々を含めこれまでの MITOL に関する研究報告は全て培養細胞などを用いた *in vitro* の報告であり、マウスなどを用いた *in vivo* の研究報告はない。個体は培養細胞のような均一な細胞で形成されておらず、様々な細胞が協調して形成されている。ミトコンドリアの形態も組織によって異なることが知られていることから、ミトコンドリアと小胞体の接着の様式や役割も異なることが予想される。我々は組織特異的な MITOL 欠損マウスを用いて、組織ごとにおける MITOL の機能の違いおよび MAM の役割の違いを明らかにする。本研究は神経細胞、脳、心臓、皮膚特異的に MITOL を欠損したマウスを用いて各組織における MITOL と MAM の役割の解明を行う。

### 図 ミトコンドリアと小胞体の形態

1つのミトコンドリア(黄色)に複数の小胞体(赤、青、紫、ピンク、緑)が接着した3次元構築画像。



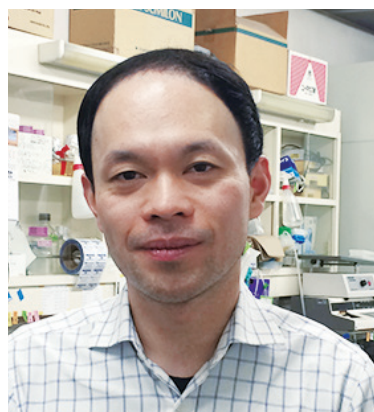
### 関連論文

1. Nagashima S, Yanagi S. (2014) Role of MITOL in mitochondrial dynamics and disease. *Seikagaku*. 86(1):63-7. Review. Japanese.
2. Nagashima S, Tokuyama T, Yonashiro R, Inatome R, Yanagi S. (2014) Roles of mitochondrial ubiquitin ligase MITOL/MARCH5 in mitochondrial dynamics and diseases. *J Biochem*. 155(5):273-9. Review
3. †Sugiura, A., †Nagashima, S. (†<sup>eq</sup>equally contribution), Tokuyama, T., Amo, T., Matsuki, Y., Ishido, S., Kudo, Y., McBride, H.M., Fukuda, T., Matsushita, T., Inatome, R., and Yanagi, S. (2013) MITOL regulates endoplasmic reticulum-mitochondria contacts via Mitofusin2. *Mol. Cell* 51, 1-15 (査読あり)
4. Nagashima, S., Fukuda, T., Kubota, Y., Sugiura, A., Nakao, M., Inatome, R., and Yanagi, S. (2011) CRAG protects neuronal cells against cytotoxicity of expanded polyglutamine protein partially via c-fos-dependent AP-1 activation. *J. Biol. Chem.* 286(39), 33879-33889 (査読あり)
5. Sugiura, A., Yonashiro, R., Fukuda, T., Matsushita, N., Nagashima, S., Inatome, R., and Yanagi, S. (2011) A mitochondrial ubiquitin ligase MITOL controls cell toxicity of polyglutamine-expanded protein. *Mitochondrion* 11(1), 139-146 (査読あり)



# レジオネラ感染における Syntaxin17 を介した MAM の構築機構の解析

## オルガネラの接触場の形成機構と破綻による疾患



東京薬科大学 生命科学部  
分子細胞生物学研究室助教

新崎 恒平

ORGANELLA  
Tokyo University of  
Pharmacy and  
Life Sciences

### 研究の要旨

感染症とは病原性を有したウイルスや微生物が宿主細胞内に侵入し、増殖—破砕—周辺への感染を繰り返すこと様々な臓器・組織に障害を引き起こす病である。宿主細胞内に侵入したウイルスや病原菌は、細胞に備わっている生理機能をコントロールすることで増殖に都合の良い環境を細胞内に作り出している。最近の研究により、ある種のウイルスや病原菌がオルガネラ接触場の機能をコントロールしていることが分かってきた。そこで、本研究では肺炎の原因となるレジオネラ菌を感染モデルとしてレジオネラ菌の細胞内感染とオルガネラ接触場との関連を見いだす。

### 研究の概要

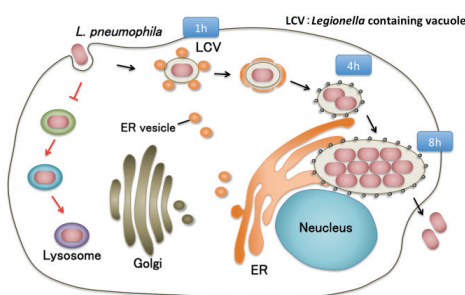
グラム陰性細菌に属するレジオネラ菌は肺炎の原因となることが知られている。日本においても温泉地等でのレジオネラ菌の集団発生や死亡事故が度々報道されており、我々にとって身近なそして楽観の出来ない病原菌である。

レジオネラ菌の宿主細胞への侵入にはファゴサイトーシス（食作用）経路を介している。通常、ファゴサイトーシスでは取り込んだ細胞外の異物を分解系のオルガネラであるリソソームへと輸送する。宿主細胞内に取り込まれたレジオネラ菌はレジオネラ小胞（Legionella-containing vacuole; LCV）と呼ばれる膜構造を形成し、LCV はリソソームへの輸送を阻害することが知られている（添付図；左方向）。

一方、LCV には宿主細胞の小胞体より出芽した輸送小胞が供給された結果、LCV の膜構造が変換し、この膜構造変換が“レジオネラ菌の増殖の場”である小胞体と LCV との融合に必要不可欠である（添付図；右方向）。そして、これら一連の感染経路にはレジオネラ菌が宿主細胞に対して分泌する“レジオネラエフェクター”が重要な役割を担っていることが明らかになっている。

我々はレジオネラ菌の“宿主細胞内における振る舞い”に興味を持って研究を進めており、細胞内に侵入したレジオネラ菌を“一つのオルガネラ”と見なして他のオルガネラとの関わりを解析している。その過程において、レジオネラ菌が Syntaxin (Stx)17 を分解している可能性を示唆する結果を得た。Stx17 は我々の研究室において MAM に局在し、ミトコンドリアの生理機能を制御していることを明らかにしている。また、Stx17 はオートファジー（栄養飢餓状態のエネルギー補給や細胞内の病原菌の排除に機能）にも働いていることが見いだされている。そこで、現在はレジオネラ菌による Stx17 の分解機構及びその生理的意義の解明、また Stx17 の分解に寄与するレジオネラエフェクターの同定を目的として研究を進めている。

図 レジオネラ菌の細胞内感染経路



ファゴサイトーシスにより宿主細胞内に侵入したレジオネラ菌はリソソームへの輸送経路をブロックする。また、宿主細胞の小胞体より出芽した輸送小胞を取り込むことで膜構造の変換を引き起こす。その後、小胞体と融合し増殖をする。

### 関連論文

1. Arasaki K, Shimizu H, Mogari H, Nishida N, Hirota N, Furuno A, Kudo A, Baba M, Baba N, Cheng J, Fujimoto T, Ishihara N, Ortiz-Sandoval C, Barlow L, Raturi A, Dohmae N, Wakana Y, Inoue H, Tani K, Dacks J, Simmen T, and Tagaya M. A novel role for the ancient SNARE Syntaxin 17 in regulating mitochondrial division. *Developmental Cell*. 2015 32(3): 304-17.
2. Hubber A, Arasaki K, Nakatsu F, Hardiman C, Lambright D, De Camilli P, Nagai H, Roy CR. The machinery at endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites contributes to spatial regulation of multiple Legionella effector proteins. *PLoS Pathog*. 2014 10(7): e1004222. (査読あり)
3. Arasaki K, Toomre DK, Roy CR. The Legionella pneumophila effector DrrA is sufficient to stimulate SNARE-dependent membrane fusion. *Cell Host Microbe*. 2012 11(1): 46-57. (査読あり)
4. Mukherjee S, Liu X, Arasaki K, McDonough J, Galán JE, Roy CR. Modulation of Rab GTPase function by a protein phosphocholine transferase. *Nature*. 2011 477(7362): 103-6.
5. Arasaki K, Roy CR. Legionella pneumophila promotes functional interactions between plasma membrane syntaxins and Sec22b. *Traffic*. 2010 11(5): 587-600.

## Sec16B を介したペルオキシソームと 脂肪滴の連関の解析



東京薬科大学 生命科学部  
細胞情報医科学研究室 助教



### 研究の要旨

小胞体は分泌輸送のスタート地点であり、分泌経路に位置するオルガネラの形成起点である。一方最近の研究から、小胞体は分泌経路以外のオルガネラとも近接あるいは接触し、それらの形成、機能に関わることが明らかとなっていった。我々は、分泌輸送に働くと考えられていた Sec16B が、小胞体からペルオキシソームへの輸送に働くことを報告した。また最近、Sec16B が脂肪滴形成にも関わる可能性を見出した。本研究では、小胞体からペルオキシソームへのタンパク質輸送機構を解析し、分泌経路との違いを明らかにする。さらにペルオキシソーム形成と脂肪滴形成との関連を探る。

### 研究の概要

小胞体は多くの細胞で最大のオルガネラであり、分泌経路のスタート地点である。一方、最近の研究から、小胞体はミトコンドリア、ペルオキシソーム、脂肪滴などの分泌経路以外のオルガネラとも近接あるいは接触をもち、それらの形成、機能に関わることが明らかとなってきている。

小胞体からの分泌輸送には、輸送小胞のひとつである COPII 小胞が働く。Sec16 は酵母で発見された COPII 小胞のコートタンパク質の会合調節因子である。動物の Sec16 は、Sec16A、Sec16B の二種類が同定されており、酵母と同様に分泌経路に働くと考えられていた。我々は、Sec16B が Sec16A とは異なり、小胞体からペルオキシソームへのタンパク質輸送に働くことを発見した。また、最近、Sec16B が脂肪滴形成に関わる可能性を見出した。

ペルオキシソームは、長年ミトコンドリアと同様に分裂により増殖すると考えられてきた。しかし近年、小胞体からペルオキシソームが新規に形成されるという「ペルオキシソーム de novo 合成」の概念が確立しつつある。また脂肪滴は、細胞内で脂質を蓄積するオルガネラであり、小胞体から形成される。本研究では Sec16B の機能解析を足がかりに、小胞体とペルオキシソーム、小胞体と脂肪滴との関係を調べる。そして両オルガネラの小胞体を介した連関の可能性を探る。

### 関連論文

1. **Baba T**, Kashiwagi Y, Arimitsu N, Kogure T, Edo A, Maruyama T, Nakao K, Nakanishi H, Kinoshita M, Frohman MA, Yamamoto A, Tani K. (2014) Phosphatidic acid (PA) -preferring phospholipase A1 regulates mitochondrial dynamics. *J Biol Chem.* 289: 11497-11511.
2. **Baba T**, Yamamoto A, Tagaya M, Tani K. (2013) A lysophospholipid acyltransferase antagonist, CI-976, creates novel membrane tubules marked by intracellular phospholipase A1 KIAA0725p. *Mol Cell Biochem.* 376: 151-161.
3. Inoue H\*, **Baba T**\*, Sato S, Ohtsuki R, Takemori A, Watanabe T, Tagaya M, Tani K. (2012) Roles of SAM and DDHD domains in mammalian intracellular phospholipase A1 KIAA0725p. *Biochim Biophys Acta.* 1823: 930-939. \* equally contributed
4. Yonekawa S, Furuno A, **Baba T**, Fujiki Y, Ogasawara Y, Yamamoto A, Tagaya M, Tani K. (2011) Sec16B is involved in the endoplasmic reticulum export of the peroxisomal membrane biogenesis factor Peroxin 16 (Pex16) in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108: 12746-12751.

A C T I V I T Y R E P O R T

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

オルガネラの  
接触場の形成機構と  
破綻による疾患

MAM におけるリン脂質代謝異常がもたらす疾患機構の解明



東京薬科大学 生命科学部  
ゲノム病態医科学研究室・教授

深見 希代子



研究の要旨

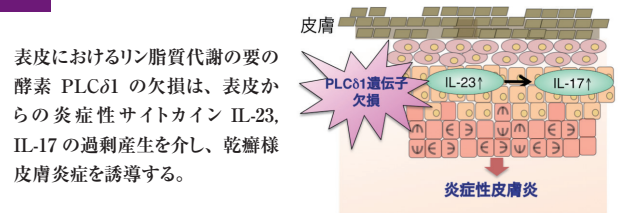
MAM における ER- ミトコンドリア間の Ca<sup>2+</sup> の受け渡しには、イノシトール 1,4,5 三リン酸 (IP<sub>3</sub>)R が関与し、ミトコンドリアの正常な機能維持に不可欠である。従ってイノシトールリン脂質代謝が、ミトコンドリアの機能維持に重要な役割を果たす事が示唆される。またミトコンドリアの機能破綻は多様な疾患に関与しており、炎症性皮膚疾患やがん細胞の悪性化においても、オルガネラの機能異常に起因する場合が予想される。そこで MAM におけるリン脂質代謝の調節機構を解析し、その異常がもたらす病態との関連性を検証する。

研究の概要

MAM における ER- ミトコンドリア間の Ca<sup>2+</sup> の受け渡しはイノシトール 1,4,5 三リン酸 (IP<sub>3</sub>)R を介して行われており、ミトコンドリアの正常な機能維持に必須である。こうしたことから、IP<sub>3</sub> 産生を司るイノシトールリン脂質代謝が、ミトコンドリアの機能維持に重要な役割を果たす事が示唆される。実際、イノシトールリン脂質代謝の要の酵素ホスホリパーゼ C(PLC) の1つ PLC $\delta$ 1 はミトコンドリアに存在が認められ、ミトコンドリアの Ca<sup>2+</sup> 取り込みを調節することが報告されている。また、PLC の基質 PIP<sub>2</sub> をミトコンドリアで枯渇させるとミトコンドリアが分裂することが報告されており、PLC が MAM または MAM 近傍のミトコンドリア膜において PIP<sub>2</sub> の分解により IP<sub>3</sub> を産生し ER- ミトコンドリア間の Ca<sup>2+</sup> の受け渡しなどの MAM の機能を制御している可能性が考えられる。

ミトコンドリアの機能破綻は多様な疾患に関与しており、炎症性皮膚疾患もその一つである。特に乾癬、アトピー性皮膚炎の発症・悪化にはインフラマソームの過剰活性化や ROS 過剰産生といったミトコンドリア機能異常に起因する現象が深く関与している。我々はこれまでに PLC $\delta$ 1 欠損マウスでは乾癬やアトピー性皮膚炎様の異常が引き起こされることを見出している。そこで本研究では第一に PLC $\delta$ 1 や PIPs 動態の異常により誘導される皮膚疾患等に MAM の機能異常 (ER- ミトコンドリア間の Ca<sup>2+</sup> 受け渡し異常など) が介在する可能性を検証する事を目的とする。またがん細胞の悪性化においても、ER、ミトコンドリアなどのオルガネラの機能異常に起因する場合が予想される。そこで MAM におけるリン脂質代謝の調節機構を解析し、その異常がもたらす病態との関連性を検討する。

図 皮膚におけるリン脂質代謝の重要性



関連論文

1. Satow R., Hirano T., Batori R., Nakamura T., Murayama, Y., \*Fukami K. (2014) Phospholipase C delta 1 induces E-cadherin expression and suppresses malignancy in colorectal cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 111:13505-13510 (査読有)
2. Nakamura Y., Kanemaru K., Kojima R., Hashimoto Y., Marunouchi T., Oka, N. Ogura T., Tanonaka K., \*Fukami K. (2014) Simultaneous loss of phospholipase C $\delta$ 1 and phospholipase C $\delta$ 3 causes cardiomyocyte apoptosis and cardiomyopathy. *Cell Death & Disease* 5, e1215 doi:10.1038/cddis.2014.181 (査読有)
3. Hirano T., Satow R., Kato A., Tamura M., Murayama Y., Saya H., Kojima H., Nagano T., Okabe T., \*Fukami K. (2013) Identification of novel small compounds that restore E-cadherin expression and inhibit tumor cell motility and invasiveness. *Biochem. Pharmacol.* 86:1419-29. (査読有)
4. Kanemaru K., \*Nakamura Y., Sato K., Kojima R., Takahashi S., Yamaguchi M., Ichinohe M., Kiyonari H., Shioi G., Kabashima K., Nakahigashi K., Asagiri M., Jamora C., Yamaguchi H., \*Fukami K. (2012) Epidermal phospholipase C  $\delta$ 1 regulates granulocyte counts and systemic interleukin-17 levels in mice. *Nature Commun.* 3:963, DOI:10.1038/ncomms1960 (査読有)
5. \*Yamaguchi H., Yoshida S., Muroi E., Yoshida N., Kawamura M., Kouchi Z., Nakamura Y., Sakai R., Fukami K. (2011) Phosphoinositide 3-kinase signaling mediated by p110 $\alpha$  regulates invadopodia formation. *J. Cell Biol.* 193:1275-88 (査読有)
6. Hirata M., Suzuki M., Ishii R., Satow R., Uchida T., Kitazumi T., Sasaki T., Kitamura T., Yamaguchi H., Nakamura Y., \*Fukami K. (2011) Genetic defect in phospholipase C $\delta$ 1 protects mice from obesity by regulating thermogenesis and adipogenesis. *Diabetes* 60:1926-37 (査読有)

## A C T I V I T Y R E P O R T

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

オルガネラの  
接触場の形成機構と  
破綻による疾患腸管マクロファージ活性化における MAM の役割と  
病理学的意義の解明東京薬科大学 生命科学部  
免疫制御学研究室・教授

田中正人



## 研究の要旨

組織に局在するマクロファージは、種々の疾患において最初に組織傷害を感知し、炎症や免疫応答を誘導する。この応答は疾患病理を規定する重要な要素であることが分かりつつある。我々は、組織傷害に伴う炎症・免疫応答に重要な役割を担う CD169 陽性組織マクロファージを同定した。本研究では、マクロファージにおける炎症誘導時のオルガネラ接触場の動態の変化に注目し、その制御による疾患治療の可能性を検討する。

## 研究の概要

様々な疾患では、種々の病理的要因により細胞死が誘導され、組織の機能不全が起きる。さらに多くの場合、これに伴って炎症・免疫応答が誘導され、さらなる組織傷害が起こることが想定される。この細胞死に伴う炎症・免疫応答に起因する組織傷害は、疾患病理に多大な影響を与える。マクロファージはこの応答を誘導する中心的な細胞である。生体内で細胞が死ぬとその死骸は、マクロファージにより速やかに貪食される。死細胞を貪食したマクロファージは、死細胞の性質に応じて T 細胞への死細胞由来抗原の提示や炎症誘導等の免疫応答を行う。多くの疾患ではこのマクロファージの応答が、疾患の重症度や組織修復や再生の度合いを規定する重要な要素であることが分かりつつあるが、その詳細なメカニズムは未解明のままである。

最近我々は、炎症性腸疾患モデルや腎虚血再灌流モデルにおいて、組織に局在する CD169 陽性マクロファージが、疾患の進展に重要な役割を担っていることを明らかにした。このマクロファージは、組織の実質細胞と血管あるいは組織外環境との境界領域に局在し、組織傷害により生じた死細胞の処理や、炎症性サイトカイン分泌の制御を介して、疾患病理の形成に重要な役割を担っている。死細胞処理やサイトカイン分泌には、ライソソームや分泌顆粒の形成・輸送が深く関わっていることから、当該マクロファージにおける細胞小器官の動態の解析は、疾患病理の理解に資するものと考えられる。このような背景のもと、本研究ではマクロファージにおける炎症誘導時のオルガネラ接触場の動態の変化に注目し、その制御による疾患治療の可能性を検討する。

## 関連論文

1. Karasawa K, Asano K, Moriyama S, Ushiki M, Monya M, Iida M, Kuboki E, Yagita H, Uchida K, Nitta K, **Tanaka M.** (2014) Vascular-resident CD169-positive Monocytes and Macrophages Control Neutrophil Accumulation in the Kidney with Ischemia-reperfusion Injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* in press
2. Asano, K., Nabeyama, A., Miyake, Y., Qiu, CH., Kurita, A., Tomura, M., Kanagawa, O., Fujii, S., and **Tanaka, M.** (2011) CD169-positive macrophages dominate antitumor immunity by crosspresenting dead cell-associated antigens. *Immunity*, 34, 85-95.
3. Nabeyama, A., Kurita, A., Asano, K., Miyake, Y., Yasuda, T., Miura, I., Nishitai, G., Arakawa, S., Shimizu, S., Wakana, S., Yoshida, H., and **Tanaka, M.** (2010) xCT deficiency accelerates chemically induced tumorigenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 107, 6436-6441.
4. Miyake Y, Asano K, Kaise H, Uemura M, Nakayama M, **Tanaka M.** (2007) Critical role of macrophages in the marginal zone in the suppression of immune responses to apoptotic cell-associated antigens. *J Clin Invest* 117: 2268-2278.
5. Asano K, Miwa M, Miwa K, Hanayama R, Nagase H, Nagata S, **Tanaka M.** (2004) Masking of phosphatidylserine inhibits apoptotic cell engulfment and induces autoantibody production in mice. *J Exp Med*, 200: 459-467.

# 腫瘍微小環境におけるオルガネラ接触場の役割



東京薬科大学 生命科学部  
腫瘍医科学研究室・教授

渡部 徹郎



## 研究の要旨

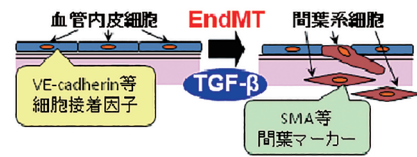
腫瘍はがん細胞のみならず、腫瘍血管・がん関連線維芽細胞・炎症性細胞など様々な因子から構成され、腫瘍微小環境を形成している。この正常組織とは異なる環境において、さまざまな腫瘍特有のサイトカインや成長因子が細胞のオルガネラ接触場に影響を与えて、その変化が構成細胞の特徴を決定していると考えられる。本研究においては、腫瘍微小環境において観察される腫瘍血管内皮細胞からがん関連線維芽細胞が形成される現象（血管内皮間葉移行）に注目して、その過程におけるオルガネラ接触場の変化を検討する。

## 研究の概要

近年のがん研究により「腫瘍微小環境の様々な構成因子ががん細胞の増殖と悪性を亢進している」という考えが確立しつつある。腫瘍微小環境はがん細胞に加えて、がん細胞に酸素や栄養を供給する腫瘍血管や、がん細胞の増殖や悪性と誘導するサイトカインを分泌する炎症性細胞ならびにがん関連線維芽細胞 (cancer associated fibroblast: CAF) などから構成されている。この CAF はがんの悪性化要因であるため、治療の対象として注目を集めているが、近年この CAF の一部が腫瘍血管内皮細胞から形成されることが報告されている。

血管はすべての臓器に分布し、酸素や栄養を供給することによって生体の恒常性を維持することから、その異常は生命に関わる疾患を引き起こす。また、血管が単に血液や酸素、種々の因子などを運ぶ管ではなく、様々な形で周囲の組織と相互作用し、発生過程、臓器形成、病態形成過程等それぞれにおいて多彩な役割を果たし、生体の動的恒常性の維持に中心的な役割を果たしていることが明らかになってきた。このような多様な血管構造はがんなどの病的な環境において可塑的に変化することにより周辺臓器に影響を与えることが近年報告された。血管内皮細胞は内皮間葉転換 (Endothelial Mesenchymal Transition: EndMT) という過程を経て間葉系細胞へと分化し、生成した線維芽細胞は癌細胞の増殖亢進を誘導することで病態を進行させる。EndMT は炎症性細胞が分泌する TGF- $\beta$  などさまざまなサイトカインにより調節されているが、まだ詳細な分子機構については不明な部分が多く、関連疾患の診断や治療を困難なものにしている。また、この細胞の分化転換に伴い、細胞内のオルガネラ接触場がどのように変化するかについては全く報告がない。そこで本研究では、この EndMT におけるオルガネラ接触場の動態の変化に注目し、研究を進める予定である。

## 図 血管内皮間葉移行 (EndMT)

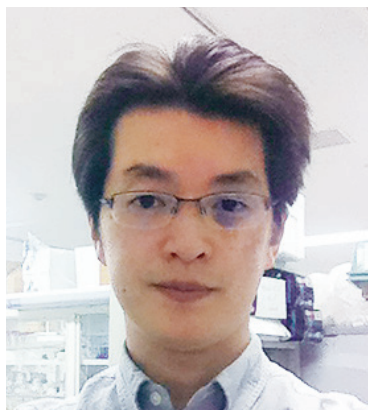


VE-cadherin などの細胞間接着因子を発現する血管内皮細胞は腫瘍微小環境に豊富に存在する TGF- $\beta$  などの刺激により、その性質を失い、アクチン (SMA) などを発現する運動性に富んだ間葉系細胞へと移行する。

## 関連論文

1. Miyazaki H, Yoshimatsu Y, Akatsu Y, Mishima K, Fukayama M, **Watabe T**, Miyazono K. (2014) Expression of platelet-derived growth factor receptor  $\beta$  is maintained by Prox1 in lymphatic endothelial cells and is required for tumor lymphangiogenesis. *Cancer Science*. 2014 105:1116-1123 (査読有)
- 2.7. Yoshimatsu Y, Lee YG, Akatsu Y, Taguchi L, Suzuki HI, Cunha SI, Maruyama K, Suzuki Y, Yamazaki T, Katsura A, Oh SP, Zimmers TA, Lee SJ, Pietras K, Koh GY, **Miyazono K**, **Watabe T**. (2013) Bone morphogenetic protein-9 inhibits lymphatic vessel formation via activin receptor-like kinase 1 during development and cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110:18940-18945 (査読有)
3. Kawata M, Koinuma D, Ogami T, Umezawa K, Iwata C, **Watabe T**, **Miyazono K**. (2012) TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition of A549 lung adenocarcinoma cells is enhanced by pro-inflammatory cytokines derived from RAW 264.7 macrophage cells. *Journal of Biochemistry*. 151:205-216. (査読有)
4. Mihira H, Suzuki HI, Akatsu Y, Yoshimatsu Y, Igarashi T, Miyazono K, **Watabe T**. (2012) TGF- $\beta$ -induced mesenchymal transition of MS-1 endothelial cells requires Smad-dependent cooperative activation of Rho signals and MRTF-A. *J Biochem*. 143:199-206. (査読有)
5. Suzuki Y, Ohga N, Morishita Y, Hida K, Miyazono K, **Watabe T**. (2010) BMP-9 induces proliferation of multiple types of endothelial cells in vitro and in vivo. *Journal of Cell Science*. 123:1684-1692. (査読有)

## アフリカツメガエル卵無細胞再構成系を用いた MAM の解析



東京薬科大学 生命科学部  
細胞制御医科学研究室 助教

橋本 吉民



### 研究の要旨

アフリカツメガエル卵抽出液を用いた細胞核や小胞体などのオルガネラ無細胞再構成系は、それぞれの形成機序や機能制御の詳細な生化学的解析に適している。本研究では、小胞体再構成系と単離ミトコンドリアを組み合わせる MAM 構造の再構成系を構築し、MAM 制御因子の機能や細胞周期における MAM の動態、アポトーシスにおける役割などを試験管内で解析する。得られた知見を元に MAM 制御異常と細胞癌化との関連を探る。

### 研究の概要

小胞体とミトコンドリアの接触部位 (mitochondria-associated membrane: MAM) は、ミトコンドリアのダイナミクス、細胞増殖、アポトーシス、オートファジーなどの基本的な生命現象の制御に関わっており、その機能破綻がアルツハイマー病やパーキンソン病などの疾患の原因になり得ると考えられている。しかしながら、MAM 構築因子や制御因子についての研究はまだ始まったばかりであり、その全体像についてはよく分かっていない。本研究では、MAM の役割や形成機構、動態制御について独自の知見を得ることを目的として、MAM 構造の無細胞再構成系の構築に取り組み、試験管内における生化学的研究を進める。

アフリカツメガエルの未受精卵を分画して得られる抽出液は、細胞周期進行、半保存的な染色体複製、アポトーシスなど様々な生命現象や細胞核を始めとした各種オルガネラを試験管内で効率よく再構成できることから無細胞系としてよく用いられている。卵抽出液を用いた小胞体再構成系はすでに実現しており、小胞体関連因子の同定や動態制御の研究に用いられている。本研究では、この系と単離ミトコンドリアを組み合わせることにより MAM 構造の再現を試みる。MAM 再構成系が確立できれば、特異的抗体を用いた免疫除去法により MITOL、Syntaxin17、Mfn2 など既知の MAM 因子の MAM 形成における必要性や詳細な機能を明らかにするとともに、単離した MAM 画分の質量分析により新規因子の探索を試みる。卵無細胞系では細胞周期の状態を間期から分裂期、分裂期から間期へと試験管内で容易に転換できるため、これを利用して MAM 構造や関連因子の細胞周期に伴う変化について解析する。また、ミトコンドリア画分を添加した卵抽出液では、自発的アポトーシスが起きることが知られているが、この際の MAM 構造の関与は不明であり、MAM 因子の除去による影響等を検討する。さらに、これらの解析を通して得られた知見を元にして、他の研究グループと連携して MAM 制御の異常と細胞癌化との関連について検討していく予定である。

### 関連論文

1. Ray Chaudhuri A, Hashimoto Y, Herrador R, Neelsen KJ, Fanchinetti D, Bermejo R, Cocito A, Costanzo V, Lopes M. (2012) Topoisomerase I poisoning results in PARP-mediated replication fork reversal. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 417-23 (査読有)
2. Hashimoto Y, Puddu F, Costanzo V. (2012) RAD51 and MRE11 dependent reassembly of uncoupled CMG helicase complex at collapsed replication forks. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 17-24 (査読有)
3. Hashimoto Y, Ray Chaudhuri A, Lopes M, Costanzo V. (2010) Rad51 protects nascent DNA from Mre11-dependent degradation and promotes continuous DNA synthesis. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 17, 1305-1311 (査読有)
4. Hashimoto Y, Tsujimura T, Sugino A, Takisawa H. (2006) The phosphorylated C-terminal domain of Xenopus Cut5 directly mediates ATR-dependent activation of Chk1. *Genes Cells*, 11, 993-1007 (査読有)

O R G

A

N



オルガネラの接触場の形成機構と破綻による疾患 Newsletter Vol.1

発行日 / 2015 年 3 月

発 行

領域番号：S1411014 (平成 26 年度～30 年度)  
領域代表：柳 茂  
東京薬科大学 生命科学部 分子生化学研究室  
〒192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1  
TEL.042-676-7146 FAX.042-676-7149  
E-mail: info@organella-tupls.net

L

L

A