

公益財団法人 三重医学研究振興会

令和4年度医学研究助成金研究成果報告書

令和5年3月16日

緑の風記念三重医学研究振興会賞（基礎医学・看護学部門）

報告者 氏名（年齢） 白水 崇 （47歳）

所属・職名 三重大学大学院医学系研究科統合薬理学・助教

○受賞の感想と今後の抱負

この度は、緑の風記念三重医学研究振興会賞を受賞することができまして、誠に光栄に思います。本研究は10年以上前に私が愛知県がんセンターでポスドクをしていた頃に関わっていたテーマに端を発し、その後所属を変えながら三重大学に赴任した際に再び関わることとなった思い出深いテーマです。この間、多くの方々にご指導、ご助力を頂きました。お世話になった方々に感謝しつつ、本研究を一步でも先に進められるよう、日々精進していく所存です。

○受賞テーマ

「ゼブラフィッシュを用いた一次線毛動態制御機構の解明」

○研究の概要と将来展望

細胞膜上に存在する小さな不動性の突起である一次線毛(Primary cilia)は細胞内外のシグナル伝達に働き、その構造形成および機能に関する遺伝子の異常が線毛病と言われる一連の疾患を引き起こすことが知られている。また一次線毛を介したシグナル伝達が、細胞の増殖や分化に関わることが明らかとなっており、一次線毛の動態制御メカニズムの解明が、新たな疾患治療の標的に繋がることが期待されている。申請者らはこれまでに、一次線毛形成に関わる遺伝子としてトリコプレインを同定し、ユビキチン・プロテアソーム系を介した制御により、一次線毛の形成抑制に働くことを明らかにしてきた。しかしながら、ユビキチン・プロテアソームを介した一次線毛形成のメカニズムには未解明な点が多く、その全貌は明らかにされていない。そこで本研究では、ゼブラフィッシュを用いた解析により一次線毛の形成に関わると遺伝子について、その機能を評価することにより、一次線毛の形成を制御する機構を解明することを目的とした。ゼブラフィッシュは創薬スクリーニングに適

した実験動物であることから、本研究の成果から新しい治療法の開発にも繋がることが期待できる。

関連分野における本研究の特筆すべき点

さまざまな細胞の表面に存在する一次線毛の機能については長らく不明であったが、細胞外からのシグナルを細胞内へと伝達するアンテナの様な働きをすることが明らかとなつて以来、一次線毛の構築や一次線毛を介したシグナル伝達に関わる分子の同定とその分子メカニズムについての研究が活発に行われるようになった。また、一次線毛は、細胞周期の静止期に出現し、増殖期には消失する動的な性質を示すことから、細胞の増殖を制御する役割があるのではないかと考えられてきた。我々は、一次線毛の動的な構造の制御に関わる分子として、中間径フィラメント結合タンパク質であるトリコプレイン(TCHP)に着目した。この分子は一次線毛基部に局在し、ユビキチン-プロテアソーム系を介した一次線毛の動態制御に関わることを明らかとなっている。

一次線毛はまた、細胞膜上の脂質ラフトの動態制御にも関わっており、脂質ラフトを介したシグナル伝達にも関与している。トリコプレインノックアウトマウスでは高脂肪食負荷による肥満誘導が抑制されるが、これは間葉系幹細胞における一次線毛の伸長とそれによる脂質ラフトの集積阻害により、分化誘導シグナルが抑制されることが原因である。これまでの研究から、一次線毛は細胞の増殖や分化に係わることがわかってきたが、我々はさらなる詳細なメカニズム解明のため、ゼブラフィッシュを用いた解析系の構築を行った。トリコプレインや、トリコプレインのユビキチン化に関わる分子(KCTD17, USP8)をノックアウトしたゼブラフィッシュを作成したところ、一次線毛の形成や内蔵逆位などの織毛病の病態を示すフェノタイプが観察された。ゼブラフィッシュは組織再生や肥満、がんなど、様々な怪我や病気を研究するツールとして実験系が確立しており、広範なフェノタイプを示す一次線毛関連遺伝子ノックアウト個体を研究する上で適したモデル動物であると考えられる。また、申請者はこれまでに、プロテオーム解析の手法を用いて新規がん関連遺伝子の同定を行ってきた。本研究においても、ノックアウト個体を用いたプロテオーム解析を行うことにより、新規の一次線毛関連因子および治療標的分子の同定も期待できる。

本研究の将来期待される点

本研究ではゼブラフィッシュを用いて、一次線毛の形成と一次線毛を介するシグナル伝達に関わる、トリコプレインを中心とした分子の機能について、明らかにすることを目的としている。分子メカニズムから、疾患との関わりが判明すれば、その分子は有望な治療標的となり得る。一次線毛は細胞増殖制御に働くことから、がん治療の標的として一次線毛の制御にかかわる分子は注目されているが、織毛病などのその他の疾患に対しても標的となり得る分子は多い。また、ゼブラフィッシュは哺乳動物に比べて組織再生能力が高いことから、マウスなどでは解析の難しかった損傷再生などの研究についても有効であると考えられる。

ゼブラフィッシュはハイスループットな創薬ターゲットのスクリーニングにも適していることから、分子メカニズムの解明から創薬ターゲットの評価までをある程度シームレスに解析できる点でも優れたモデルである。ユビキチン・プロテアソーム系を介した一次線毛制御に関する分子を標的とした創薬の研究については未だ例はなく、本研究で得られたターゲットは新規性が高いと考えられる。遺伝子ノックアウトモデルから疾患モデル、そして治療標的遺伝子の探索とスクリーニングと、ゼブラフィッシュを用いてできる創薬研究の幅は広く、哺乳動物モデルではできない新しい視点からの治療法開発に大きく貢献することが期待できる。

○本研究に関連する代表的な原書学術論文（5編）

1. Primary cilia-dependent lipid raft/caveolin dynamics regulate adipogenesis. *Cell Rep.* 2021 Mar 9;34(10):108817. Yamakawa D, Katoh D, Kasahara K, Shiromizu T, Matsuyama M, Matsuda C, Maeno Y, Watanabe M, Nishimura Y, Inagaki M.
2. C3orf70 Is Involved in Neural and Neurobehavioral Development. Ashikawa Y, Shiromizu T, Miura K, Adachi Y, Matsui T, Bessho Y, Tanaka T, Nishimura Y. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2019 Oct 16;12(4):156.
3. Quantitation of putative colorectal cancer biomarker candidates in serum extracellular vesicles by targeted proteomics. *Sci Rep.* 2017 Oct 6;7(1):12782. Shiromizu T, Kume H, Ishida M, Adachi J, Kano M, Matsubara H, Tomonaga T.
4. Identification of missing proteins in the neXtProt database and unregistered phosphopeptides in the PhosphoSitePlus database as part of the Chromosome-centric Human Proteome Project. *J Proteome Res.* 2013 Jun 7;12(6):2414-21. Shiromizu T, Adachi J, Watanabe S, Murakami T, Kuga T, Muraoka S, Tomonaga T.
5. The keratin-binding protein Albatross regulates polarization of epithelial cells. *J Cell Biol.* 2008 Oct 6;183(1):19-28. Sugimoto M, Inoko A, Shiromizu T, Nakayama M, Zou P, Yonemura S, Hayashi Y, Izawa I, Sasoh M, Uji Y, Kaibuchi K, Kiyono T, Inagaki M.

○略歴

2000年3月 北海道大学理学部生物科学科 高分子機能学専攻 卒業
2002年3月 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 博士前期課程 修了
2006年3月 名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻 博士後期課程 修了
2006年4月 愛知県がんセンター 研究所発がん制御研究部 リサーチレジデント
2010年4月 (国)医薬基盤・健康・栄養研究所 プロテオームリサーチ・プロジェクト 特任研究員
2017年7月 三重大学 大学院医学系研究科 統合薬理学 助教

○専門分野

生化学、プロテオミクス、薬理学、実験動物学

○医学博士、専門医資格など

医学博士（名古屋大）