

令和元年6月17日

遺伝性脊髄小脳変性症発症メカニズムの解明に手掛かり

名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞学分野の辻 琢磨 助教（当時／現・順天堂大学特任助教）、藤本 豊士 名誉教授（現・順天堂大学特任教授）、大阪大学免疫学フロンティア研究センターの長田 重一 栄誉教授、東北大学大学院生命科学研究科の田口 友彦 教授らの研究グループは、生体膜^{※1}をつくる主要な脂質であるホスファチジルセリン（PS）^{※2}を観察する新たな方法を開発し、遺伝性脊髄小脳変性症の原因遺伝子の一つであるタンパク質 TMEM16K が細胞内部の生体膜の PS 分布を変化させる機能を持つことを明らかにしました。

細胞表面や細胞内小器官^{※3}を作る生体膜は二層の膜脂質が形成する脂質二重層を基本構造としています。細胞表面を被う生体膜の脂質二重層は、細胞内に向いた層だけに PS がある非対称性を示します。長田教授らのこれまでの研究により、TMEM16F が活性化することによって PS が細胞外に向いた層に移動し、生理的に重要な働きを持つことが明らかになっていました。一方、細胞内小器官の膜には TMEM16F と近縁の TMEM16K、TMEM16E などが存在することが知られていますが、技術的な問題からこれらの分子の機能は不明でした。研究グループは PS 分布を見るための新たな電子顕微鏡の解析方法を開発し、細胞内小器官の膜の PS 分布をナノレベルで可視化することに成功しました。その結果、これまで PS がほとんど存在しないと考えられていた小胞体膜の細胞質側^{※4}の層に PS が分布すること、細胞内のカルシウム濃度^{※5}が上昇すると小胞体膜・細胞質側の PS が減少するとともに小胞体膜・内腔側（細胞質側と反対の層）や核膜の PS が増加すること、さらに、それらの変化が TMEM16K が存在する場合にのみ起こることがわかりました。これらの結果は TMEM16K の生理的機能を初めて明らかにしたものであり、小胞体膜や核膜での PS の機能的意義の解明など、新たな研究の展開につながると期待されます。

本研究成果は、国際総合学術誌である「米国科学アカデミー紀要（PNAS）」（米国東部時間 2019 年 6 月 19 日付の電子版）に掲載されました。

ポイント

- 細胞内の脂質分布をナノレベルで可視化できる新たな電子顕微鏡法を確立した。
- 膜をつくる主要な脂質であるホスファチジルセリンが従来の知見と異なる分布を示すことを見出した。
- 細胞内カルシウム濃度が上昇するとホスファチジルセリンの分布が大きく変化することがわかった。
- 遺伝性脊髄小脳変性症の原因遺伝子の一つであるタンパク質 TMEM16K が欠損すると、カルシウム濃度上昇によるホスファチジルセリンの分布変化が著明に減弱した。
- 今回の結果は、タンパク質 TMEM16K 変異による疾患の発症メカニズムの解明の手掛かりとなることが期待される。

1. 背景

タンパク質 TMEM16K は SCAR10 と呼ばれる遺伝性脊髄小脳変性症の原因遺伝子ですが、その本来の機能は未知でした。一方、TMEM16K とよく似た分子構造を持つ TMEM16F は細胞表面の生体膜にあり、細胞内のカルシウム濃度が増加すると活性化して、脂質二重層間に見られるホスファチジルセリン (PS) の非対称性分布を攪乱し (スクランブラーゼと呼ばれる)、血液凝固時の血小板の活性化などに重要な役割を果たすことが知られています。TMEM16K は細胞内小器官の膜で TMEM16F と同様の働きを示すのではないかと考えられてきましたが、細胞内の PS 分布を解析することが技術的に困難であったため、上記の仮説を検証することができませんでした。

2. 研究成果

研究グループは PS に特異的に結合する evectin-2 というタンパク質の一部を利用して、PS 分布を解析する新たな電子顕微鏡の方法を開発しました (図 1)。この方法では、脂質二重層を作る 2 層それぞれにおける PS の分布パターンと分布密度をナノレベルで知ることができます。この方法を用いてマウスの細胞を解析した結果、これまで PS がほとんどないと考えられていた小胞体膜の細胞質側の層に PS が豊富に存在し、逆に小胞体膜の内腔側の層 (細胞質側と反対の層) には PS がわずかしかないことがわかりました。細胞内のカルシウム濃度を上昇させると、小胞体膜・細胞質側の PS が減少するとともに小胞体膜・内腔側や核膜^{※6}の PS が増加しました。この PS 分布の変化は、遺伝子操作によって TMEM16K を欠損させた細胞では見られなくなり、その細胞に TMEM16K を戻すと再び出現しました。これらの結果より、生理的な状態の小胞体膜では PS が細胞質側に多く、内腔側に少ないという非対称性分布を示すこと、細胞内カルシウム濃度が上昇すると TMEM16K が活性化されて、小胞体膜と核膜の PS 分布が大きく変化することが明らかになりました (図 2)。

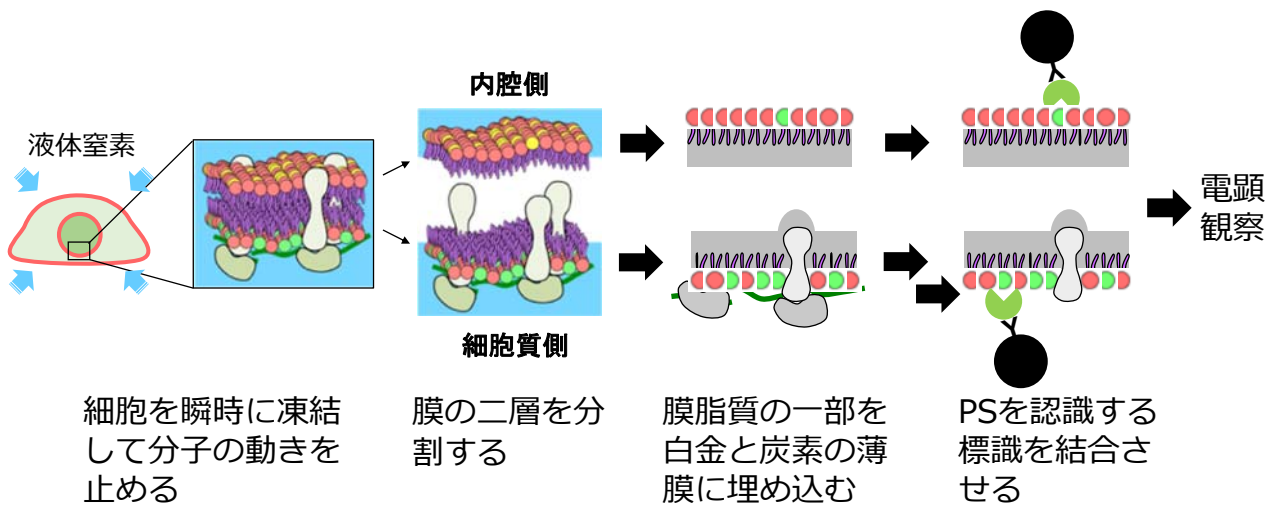


図 1 : 今回開発した方法の概略図

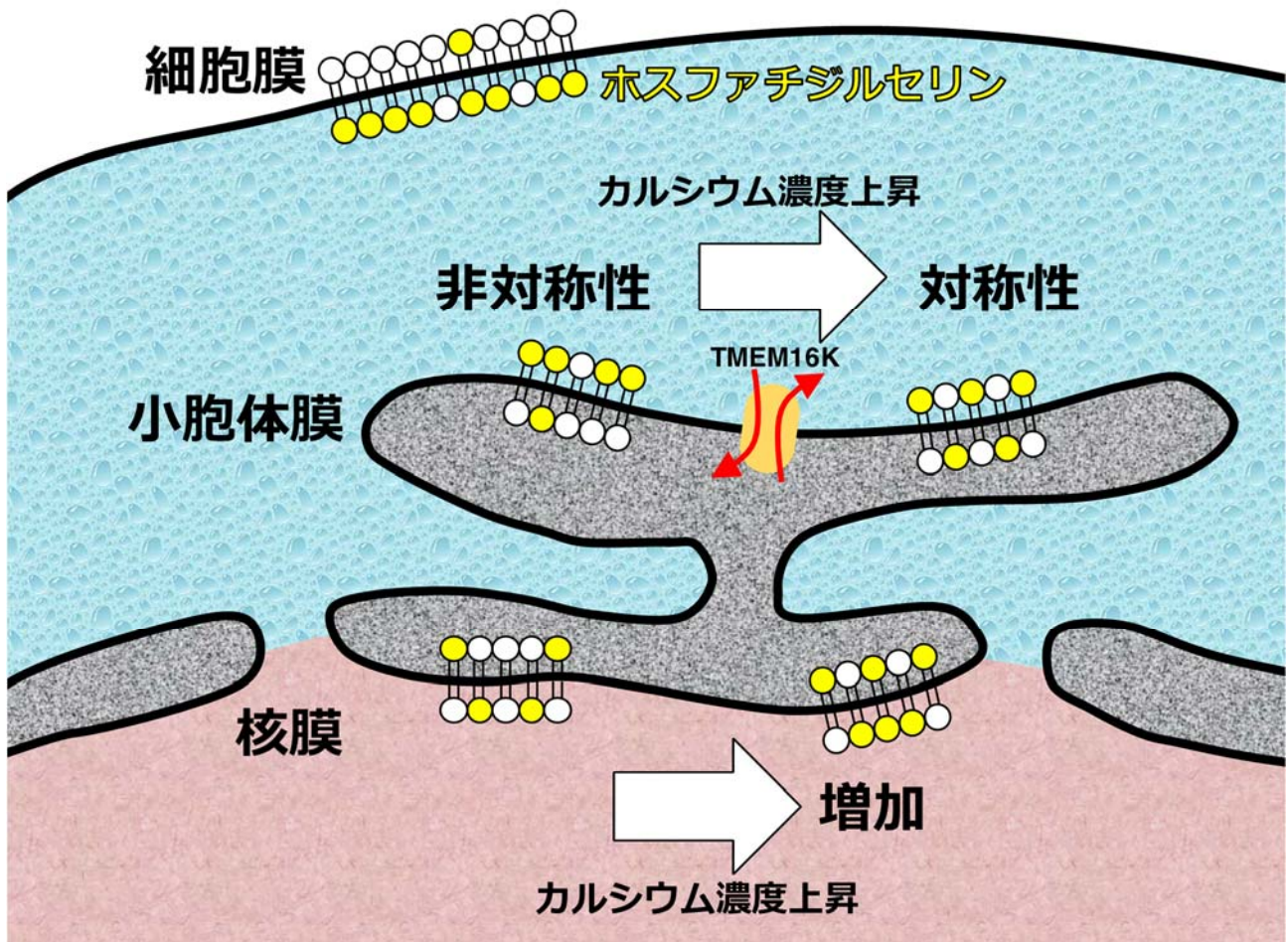


図 2 : 細胞の中の PS の分布変化と TMEM16K

3. 今後の展開

今回の研究により、TMEM16K が細胞内の膜における PS 分布の調節に大きな役割を果たすことが解明されました。TMEM16K の変異によって PS の分布変化が起こらなくなると細胞にどのような異常が生じるのかはまだわかっていませんが、その疑問を解くことにより脊髄小脳変性症の発症のメカニズムに迫ることができると期待されます。そのほか、今回の研究では、小胞体膜の PS 分布がこれまで信じられてきたものと全く異なること、また、連続する小胞体膜と核膜の PS 分布に大きな差があることが明らかになりました。これらは細胞生物学の観点から見て、非常に興味深い発見であり、特に、核膜における PS 分布変化が持つ意義の解明が期待されます。

4. 用語説明

- ※1 生体膜：脂質二重層を基本構造とし、細胞表面の形質膜や細胞内小器官を包む膜の総称。
- ※2 ホスファチジルセリン：生体膜に存在する主要なリン脂質の一つ。マイナス電荷を持ち、プラス電荷をもつタンパク質を生体膜に引き寄せるなどの働きが知られている。
- ※3 細胞内小器官：小胞体、ミトコンドリアなど、細胞内にある構造。
- ※4 小胞体膜の細胞質側：細胞内にある小胞体を作る膜の細胞質に向けた側の脂質層。
- ※5 細胞内のカルシウム濃度：様々なホルモンや薬物の刺激を受けると細胞内のカルシウム濃度が大きく上昇し、種々の現象を引き起こす引き金になる。
- ※6 核膜：核を包む生体膜。小胞体膜と連続している。

5. 発表雑誌

雑誌名：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
(米国東部時間 2019 年 6 月 19 日付の電子版に掲載)

論文タイトル：Predominant localization of phosphatidylserine at the cytoplasmic leaflet of the ER, and its TMEM16K-dependent redistribution

著者：Takuma Tsuji¹, Jinglei Cheng¹, Tsuyako Tatematsu¹, Aoi Ebata¹, Hiroki Kamikawa¹, Akikazu Fujita², Sayuri Gyobu³, Katsumori Segawa³, Hiroyuki Arai⁴, Tomohiko Taguchi⁵, Shigekazu Nagata³, and Toyoshi Fujimoto^{1,†}

所属：1Department of Anatomy and Molecular Cell Biology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan;

2Field of Veterinary Pathobiology, Joint Faculty of Veterinary Medicine, Kagoshima University, Kagoshima 890-0065, Japan;

3Biochemistry and Immunology, Immunology Frontier Research Center, Osaka University, Suita 565-0871, Japan;

4Laboratory of Health Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 113-0033, Japan

5Department of Integrative Life Sciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Sendai 980-8578, Japan

DOI: 0.1073/pnas.1822025116

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/PNAS_190618en.pdf