

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 2 年 4 月 9 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 北海道大学大学院医学研究院
職 名 助教
研究代表者 築山 忠維

下記のとおり令和元年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 18014)

1. 共同研究課題名	糖代謝が Wnt シグナルによる恒常性維持に及ぼす影響の検討			
2. 共同研究目的	Wnt シグナルは、発生時における細胞の分化・増殖に、また成体になってからは幹細胞の維持や分化の調節を担っており、恒常性維持にも重要な役割を果たしている。さらにその恒常性の破綻は発がんにも直結することもよく知られている。本共同研究では、生体における糖代謝の変化が Wnt シグナルの調節に関与するメカニズムを、幹細胞特異的ユビキチンリガーゼである RNF43 の機能に焦点をあて解明する。			
3. 共同研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和 2 年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 築山 忠維	北海道大学大学院	助教	研究全体の統括と遂行	
(分担研究者) 該当無し				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	個体統御システム分野	氏 名	石谷 太

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 18014)

6. 共同研究計画

本研究申請では、糖代謝が Wnt シグナルの調節機構に及ぼす影響と、その恒常性維持メカニズムへ関与を、ゼブラフィッシュモデルを用いて解明することを目的としていた。さらに前年度の共同研究課題の一つであった、FGF シグナルが幹細胞維持に関与するメカニズムも解明する計画であった。

その研究計画を下記に詳細を記した。

グルコース濃度が RNF43 プロセッシングを介して Wnt シグナルに与える影響の解明

前年度までの共同研究により、低グルコース濃度下では、RNF43 細胞膜近傍でプロセッシングを受けることを明らかにした。そこでグルコース濃度依存的に起こる RNF43 の切断が、Wnt シグナルと幹細胞維持、さらにはがん化にどのような影響を与えるかを、培養細胞とゼブラフィッシュモデルを用いて解明を行う。

Wnt 活性可視化ゼブラフィッシュを用いた、FGF-Wnt クロストーク機構の解明

前年度までの共同研究により、FGF2 による刺激で Wnt シグナルが大幅に増強されることを見出していた。そこですでに石谷グループが樹立している Wnt シグナルを可視化できるレポーターゼブラフィッシュを用いて、FGF 発現部位周辺での Wnt シグナル活性を追跡するとともに、FGF 下流のエフェクターキナーゼの阻害剤により、シグナルクロストークの実体解明を目指す。

7. 共同研究の成果

本年度は上記の研究計画を実行するとともに、前年度より持ち越しの課題であった RNF43 のリン酸化による Wnt 受容体の発現調節ががん化に関与する分子メカニズムの解明を、他の 2 項目より優先して行った。その結果 RNF43 のリン酸化サイトに遺伝子変異が起きることにより、Wnt 受容体の Fzd の分解異常に起因する Wnt シグナルの恒常的活性化が引き起こされることを培養細胞とゼブラフィッシュモデルの両方を用いて証明した。RNF43 自身が Wnt シグナルの標的遺伝子であるため正のフィードバックにより変異 RNF43 の発現が誘導されシグナル活性化の暴走が起こること、また同時に過剰発現した変異 RNF43 によりがん抑制遺伝子である p53 の機能抑制が起こることを確認した。つまり、RNF43 の変異 1 つのみで多段階発がんモデルの 3 段階の第 1 段階の Wnt 活性化と第 3 段階の p53 不活性化の双方を同時に達成することを意味した。さらに通常は 3 段階必要な発がんに至る変異過程を、第 2 段階に相当する Kras 変異と RNF43 変異の 2 つだけで発がんに至ることもマウスモデルを用いて示した。これらの結果は *Nature Communications* 誌に投稿中であり、現在 3 回目の修正投稿のレビュー中である(下記8の項参照)。

FGF シグナルから Wnt シグナルへのクロストークの分子メカニズムを、研究計画通り各種阻害剤を用いて検討した。その結果、FGF 下流の PI3K-Akt 経路は関与しないこと、Ras-MAPK 経路が重要な役割を果たすことを見出した。さらに FGF-Ras-MAPK 経路による Wnt シグナルの増強において、そのエフェクター分子である β -catenin タンパク質の蓄積は起こらないこと、しかし β -catenin への依存性はあることから、核内で β -catenin 上に結合するタンパク質複合体に何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。そこで FGF 刺激により β -catenin への結合に変化がある核内タンパク質をスクリーニングしたところ、複数の候補タンパク質が見出された。現在、質量分析器を用いて候補タンパク質の同定を行っているところである。これらの結果については、来年度末までに論文報告したいと考えて研究を進めている。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

A phospho-switch controls RNF43-mediated degradation of Wnt receptors to suppress tumorigenesis

Tadasuke Tsukiyama, Zou Juqi, Jihoon Kim, Shohei Ogamino, Yuki Shino, Takamasa Masuda, Alessandra Merenda, Masaki Matsumoto, Yoichiro Fujioka, Sayuri Terai, Hidehisa Takahashi, **Tohru Ishitani**, Kei-ichi Nakayama, Yusuke Ohba, Bon-Kyoung Koo and Shigetsugu Hatakeyama

Nature Communications, in 3rd revision

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

同上