

様式3

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 3 年 4 月 1 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2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	糖代謝が個体の恒常性維持に関与するメカニズムの解明			
2. 共同研究目的	Wnt シグナルは形態形成だけでなく、幹細胞維持や代謝調節などを介した成体の恒常性に深く関与している。また、この生体調節機構が破綻すると恒常性が失われ、がんや成人病をはじめとする様々な疾患を引き起こして死に至ることも知られている。本研究申請では、糖代謝が RNF43 を介して Wnt シグナルと p53 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、さらにそれをがん治療へ応用する手法を探索する。			
3. 共同研究期間	令和 2 年 4 月 1 日 ~ 令和 3 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	北海道大学大学院医学研究院 院医化学教室	助教	研究の総括・実験・解析全般	
(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	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。

6. 共同研究計画

申請者はこれまでに、膜型ユビキチンリガーゼである RNF43 が p53 経路を抑制すること(Shinada et al. **BBRC** 2011)、Wnt シグナルを負に制御していることを報告してきた(Tsukiyama et al. **MCB** 2015)。RNF43 は幹細胞特異的に発現するユビキチンリガーゼであり、その機能は p53 の転写活性の抑制と、Wnt 受容体である Fzd のユビキチン化依存的分解である。実際、RNF43 とそのホモログである ZNRF3 をノックアウトすると、マウス腸管における幹細胞領域の著明な拡大が認められる。またがん患者において RNF43 の遺伝子変異が高頻度に同定されており、その変異は Ras 変異と高頻度にリンクしているが、APC 遺伝子変異、p53 遺伝子変異とは相互排他的関係にあることも見出した。これらの申請者らの研究により、RNF43 は幹細胞で p53 と Wnt シグナルを抑制することにより幹細胞の分化増殖を調節しており、またその調節メカニズムの破綻によりがんが発症することが明らかになった。最近申請者らは、糖代謝が RNF43 の機能調節に関与していることに注目して研究を進めている。特に培養細胞を低グルコース培地で培養すると、RNF43 のプロセッシングによる機能的不活化が起こることを確認しているが、この現象が発生過程や恒常性の維持においてどのような役割を果たしているのかはまだ不明であるため、さらに今後下記の検討が必要である。

● 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、p53 下流に与える影響の解明

現在申請者らは、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、細胞外ドメインを欠く短い細胞内ドメインタンパク質が生成されること、その短い細胞内ドメインタンパク質は Wnt シグナル抑制活性を失っていること、RNF43 の発がん型変異体ではこの切断に感受性がないことは明らかにしたが、p53 を抑制する機能に関しては検討されていない。そこでこのグルコース濃度依存的に起こる RNF43 の切断が、各シグナルに及ぼす影響を検討する。

● 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、p53 下流に与える影響の解明

RNF43 の不活性化が幹細胞維持による恒常性の維持や園破綻によるがん化にどのような影響を与えるかを、ゼブラフィッシュモデルとマウスモデルを用いた解明を行う。

7. 共同研究の成果

Wnt シグナルの調節において、Wnt 受容体の分解を司るユビキチン化酵素の RNF43 の機能がそのリン酸化によって制御されていることを見出した。RNF43 は細胞内局在依存的に CK1 によりリン酸化されること、細胞内局在異常を引き起こす発がん型の RNF43 はこのリン酸化による機能活性化を受けておらず、結果として受容体の分解不全による Wnt シグナルの異常活性化を引き起こすことを明らかにした。上記の発がん変異型 RNF43 で強制的にリン酸化状態を模倣するとがん遺伝子から正常ながん抑制遺伝子へ機能回復することも示し、がん治療への応用も可能である可能性を強く示唆した。これらの成果を論文発表【Tsukiyama et al. **Nature Communications** 2020, Tsukiyama et al. **BioEssays** 2021】した結果、NHK の 2 番組(ニュース・特集)でも紹介された。

さらに、この RNF43 のリン酸化が発がん型 RNF43 のグルコース枯渇下での切断に影響を与えていることも見出したので、現在はその詳細な解析を行っている。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(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

- Tsukiyama T*, Zou J, Kim J, Ogaminio S, Shino Y, Masuda T, Merenda A, Matsumoto M, Fujioka Y, Hirose T, Terai S, Takahashi H, Ishitani T, Nakayama KI, Ohba Y, Koo BK*, Hatakeyama S. A phospho-switch controls RNF43-mediated degradation of Wnt receptors to suppress tumorigenesis. **Nature Communications** 11, 4586

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

- Tsukiyama T*, Zou J, Kim J, Ogaminio S, Shino Y, Masuda T, Merenda A, Matsumoto M, Fujioka Y, Hirose T, Terai S, Takahashi H, Ishitani T, Nakayama KI, Ohba Y, Koo BK*, Hatakeyama S. A phospho-switch controls RNF43-mediated degradation of Wnt receptors to suppress tumorigenesis. **Nature Communications** 11, 4586
- Tsukiyama T*, Koo BK, Hatakeyama S. Post-translational Wnt receptor regulation: Is the fog slowly clearing? **BioEssays** e2000297

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

- 第79回日本癌学会学術総会 2020年10月1日 単一遺伝子変異による多段階発がんの起動と完成
- Wnt 研究会 2021 2021年1月14日 Wnt receptor regulation

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- 担当教員との打合わせは、コロナウィルスによる移動自粛のため Email を介した連絡を行った。
- 実験の打合わせ、データ解析、論文投稿について、すべて Email での情報交換により成果を達成した。