

細胞は目に見えないフォースを内側から感じる

1. 発表者：

渡邊 謙吾（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 特任助教（研究当時））
森下 和浩（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 博士課程一年生）
名黒 功（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 准教授）
一條 秀憲（東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆細胞が物理的実体のない浸透圧変化を細胞内タンパク質の液—液相分離によって感知していることを明らかにしました。
- ◆細胞は浸透圧変化を細胞外環境と接する細胞膜上で感知するという考え方が近年の主流になりつつありましたが、本研究は新たな概念を提示する革新的なものです。
- ◆本研究成果は、高血圧疾患や浮腫、神経変性疾患などに対して液—液相分離を制御するといった新規治療戦略の開発に発展することが期待されます。

3. 発表概要：

細胞は、内外の浸透圧（注1）差によって強制的に体積を変化させられるストレス（注2）（＝浸透圧ストレス）に常に曝されており、浸透圧変化を感知して適切に応答することで体積を一定に保っています。これまでは細胞外環境と接する細胞膜上の変化などを介して物理的実体のない浸透圧変化を感知するという考え方に基づいた研究が主流でした。

東京大学大学院薬学系研究科の渡邊謙吾特任助教（研究当時）らの研究グループは、ASK3というタンパク質を研究モデルに分子生物学・生化学的手法と計算機シミュレーションを用いて、細胞が液—液相分離（注3）という物理現象を「引き金」として浸透圧ストレスを細胞内部で感知していることを解明しました（図1）。

本研究はいわゆる基礎研究に相当しますが、本研究成果によってASK3の役割から期待される高血圧疾患や浮腫などに対する新規治療薬の開発に向けて前進しました。さらに本研究成果によって得られた知見を活かして液—液相分離を積極的に操作することで、神経変性疾患など多くの疾患に対する新規治療戦略の開発に発展することも期待されます。

本成果は、2021年3月1日（英国時間）に、英国の科学雑誌「Nature Communications」の電子版に公開されました。なお本研究は、日本学術振興会の科学研究費助成事業（基盤研究(A) JP18H03995、基盤研究(B) JP18H02569、若手研究 JP19K16067）や日本医療研究開発機構の基盤研究事業（老化メカニズムの解明・制御プロジェクト JP20gm5010001）などの助成を受けて行われました。

4. 発表内容：

<研究の背景>

生体の構成単位である細胞は、半透膜（注1）の性質を有する細胞膜によってその内外を隔て、生命活動の場を規定しています。細胞内外はイオンや糖、アミノ酸などを含む水溶液であ

り、その濃度が常に変動することから、細胞は恒常的に浸透圧ストレス（注2）に曝されています。具体的には、細胞外液の浸透圧が細胞内液の浸透圧よりも高くなった場合（＝高浸透圧ストレス）、細胞内の水分子が強制的に細胞外へと流出し、細胞は収縮させられてしまいます。逆に細胞外液の浸透圧が細胞内液の浸透圧よりも低くなった場合（＝低浸透圧ストレス）、細胞は膨張させられます。このような体積変化は細胞内の緻密な化学反応ネットワークを乱して正常な生命活動を妨げるものであり、細胞は直ちにイオン濃度を調節して細胞体積を元に戻すシステムを有しています。この研究分野の歴史は長く、イオン輸送を担うタンパク質に関する知見は多く得られており、腎臓におけるイオン輸送タンパク質を標的とした高血圧治療薬などにも応用されてきました。一方、細胞がいかに関与しているのか、浸透圧が変化するという情報を伝達する発端の「引き金」については未だ不明な点が多く残っています。特に細菌や酵母、植物を対象にした研究では細胞膜上のタンパク質の構造変化が「引き金」になることが報告されており、細胞外環境の浸透圧変化が外界と接する細胞膜上で感知されるという概念のイメージのし易さも相まって、哺乳類細胞においてもこの考え方が近年は主流になっていました。

これまでに東京大学大学院薬学系研究科の一條秀憲教授らの研究グループは、ASK3 というタンパク質が低浸透圧ストレスで速やかに活性化（注4）するのに対し、逆に高浸透圧ストレスでは不活性化することを見出し、生体の血圧制御に重要であること（日本語プレスリリース：https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/press/p01_241219.html）、細胞の浸透圧ストレス応答システムにおいて変換器として働くこと（日本語プレスリリース：http://www.f.u-tokyo.ac.jp/manages/topics/data/1521019111_1.pdf）を解明してきました。一般に細胞の浸透圧ストレス研究において、物理的実体のない浸透圧という力を評価する方法が最大の障壁になります。そこで一條教授らの研究グループは、浸透圧ストレス応答システムにおけるASK3の重要性とスイッチのような性質に着目し、ASK3を指標とした独創的な研究モデルによって細胞内浸透圧ストレス情報伝達の「引き金」を解明する研究を引き続き展開していました。

<研究の詳細>

今回渡邊特任助教（研究当時）らは、ASK3が高浸透圧ストレス後数秒で細胞質全体に大量の丸い顆粒状局在分布を示すことに気付き、その現象が高分子クラウディング（注5）による液-液相分離（注3）であり、ASK3の不活性化に必要であることを分子生物学・生化学的手法と計算機シミュレーションを用いて解明しました。この発見は、細胞が液-液相分離という物理現象を「引き金」として浸透圧ストレスという情報を細胞内部で感知し、ASK3不活性化へと変換していることを意味し（図1）、従来の主流の考え方とは完全に異なる新しい概念を示す革新的な発見です。

さらに本研究では、以前行ったヒト全遺伝子に対する網羅的な探索結果を用いて、NAD合成の律速段階反応を担うNAMPTというタンパク質（注6）がASK3の不活性化に必要であるという完全に予想外の事実を発見しました。そして詳細な解析の結果、最終的にNAMPTにより細胞内量の調節されているポリADPリボース（注7）が、相分離されたASK3に流動性を与えることで液体の性質を維持し、ASK3不活性化を可能にしていることまで解明しました（図1）。幅広い生命科学分野においてタンパク質や脂質といった生体高分子の液-液相分離の重要性が急速に着目されつつあり、本研究は細胞における液-液相分離の新たな役割と液相制御システムを解明した点でも重大な意義があります。

<社会的意義・今後の期待>

本研究はいわゆる基礎研究に相当しますが、本研究成果によって ASK3 の活性制御機構の一端が明らかになり、ASK3 の役割から期待される高血圧疾患や浮腫などに対する新規治療薬の開発に向けて前進したことになります。また液-液相分離は、パーキンソン病やアルツハイマー病といった神経変性疾患で観察されるタンパク質凝集体の形成メカニズムとして着目されています。従って、浸透圧ストレスが細胞にとって普遍的なストレスであることも踏まえると、本研究成果によって得られた知見を活かして液-液相分離を積極的に操作することで、神経変性疾患など多くの疾患に対する新規治療戦略の開発に発展することも期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Nature Communications

論文タイトル：Cells recognize osmotic stress through liquid-liquid phase separation lubricated with poly(ADP-ribose)

著者：Kengo Watanabe*, Kazuhiro Morishita, Xiangyu Zhou, Shigeru Shiizaki, Yasuo Uchiyama, Masato Koike, Isao Naguro, Hidenori Ichijo* (*責任著者)

DOI 番号：<https://doi.org/10.1038/s41467-021-21614-5>

6. 問い合わせ先：

システムバイオロジー研究所 システム生物医学 Hood-Price 研究室

ポストドク研究員 渡邊 謙吾 (わたなべ けんご)

住所：401 Terry Ave N, Seattle, WA 98109, USA

E-mail：kwatanabe@15.alumni.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院薬学系研究科 薬科学専攻 細胞情報学教室

教授 一條 秀憲 (いちじょう ひでのり)

住所：〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel：03-5841-4858

E-mail：ichijo@mol.f.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) 浸透圧：水に溶けている分子は通さず水分子のみ通す膜(=半透膜)に純水と水溶液が隔てられている状況において、純水から水溶液側に水分子が移動して同一濃度になろうとして発生する圧力で、水溶液自体が持つ性質。物理的実体がなくイメージし難い力だが、2つの水溶液間の浸透圧差によって生じる力は、ナメクジに塩をかけると小さくなる現象などがイメージしやすい。

(注2) ストレス：生体・細胞は内部環境を一定に保とうとしているが、そのバランスを崩すもの。日常生活においては心理的ストレスが有名だが、細胞生物学においては、紫外線などの物理的ストレス、活性酸素種などの化学的ストレス、細菌感染などの生物的ストレスが研究対象になる。

(注3) 液-液相分離：物理的状態・化学的組成が一様な物質系の形態を相と言い、代表的な物質の三相として固相・液相・気相が知られる。2種類の物質系が互いの性質を保ちながら混ざり合わずに界面を形成して共存している物理現象を相分離と言う。特に液-液相分離は2種類の物質系が共に液体の場合を指し、水と油が混ざり合わず分離している現象がイメージしやすい。タンパク質や脂質といった生体高分子の液-液相分離は、細胞内の組織化や様々な疾患を説明できると考えられており、幅広い生命科学分野においてここ数年で急速に着目されている。

(注4) 活性化：ここではタンパク質が機能できるようになった状態変化のこと。逆に機能しない状態に戻る変化は不活性化と言う。

(注5) 高分子クラウディング：タンパク質やRNAなどの高分子が高濃度で存在する混み合った状態のこと。細胞内は高分子クラウディング環境であることが知られる。高分子クラウディングによって、嵩高い分子ほど立体障害が生じて自由に動き回ることのできる空間が限られ、溶媒中の分子の振る舞いに変化し、化学反応の促進や抑制などが生じる。

(注6) NAD と NAMPT：哺乳類細胞における主要 NAD 合成経路において、NAMPT というタンパク質が NMN を合成した後、NMNAT という別のタンパク質が NMN を NAD に変換する。化学・薬学分野において律速段階反応とは多段階の化学反応におけるボトルネックの反応のことを言い、いくら NMN から NAD の変換反応効率を上げても NAMPT による NMN 合成反応効率を上げない限り NAD の合成量は変化しない。特に近年 NMN や NAD による抗老化効果が着目されている。

(注7) ポリ ADP リボース：ADP リボース骨格の繰り返しから成る生体内高分子で NAD から合成される。損傷した DNA を修復する際にタンパク質に付加されたり、細胞死を誘導したりする役割が知られる。本研究では、これまで液-液相分離で相制御の役割の知られていた RNA と物理化学的性質が類似している点に着眼し、ポリ ADP リボースの液相制御という新しい役割を解明した。

8. 添付資料：

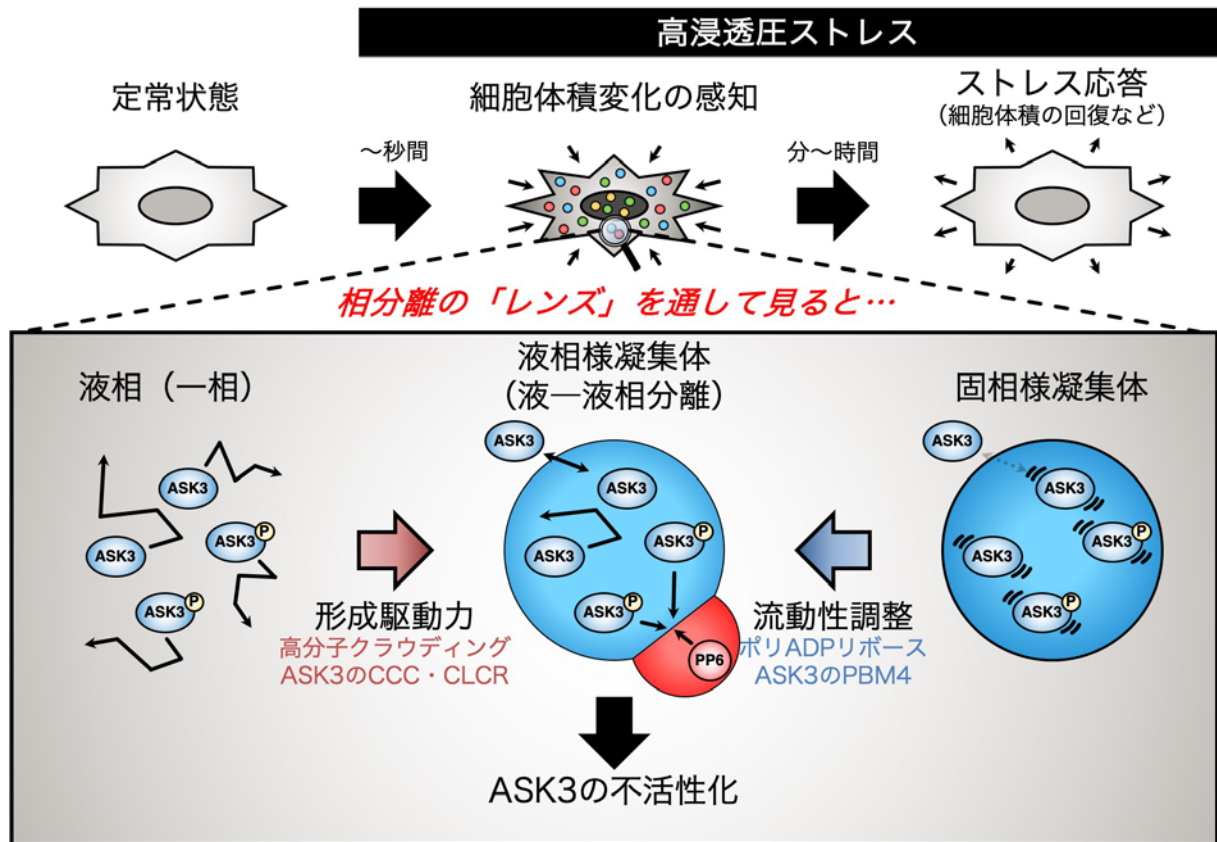


図1：細胞の浸透圧ストレス応答における液-液相分離の役割。図中のCCC・CLCR・PBM4はASK3タンパク質内領域の名称（詳細は論文を参照）。