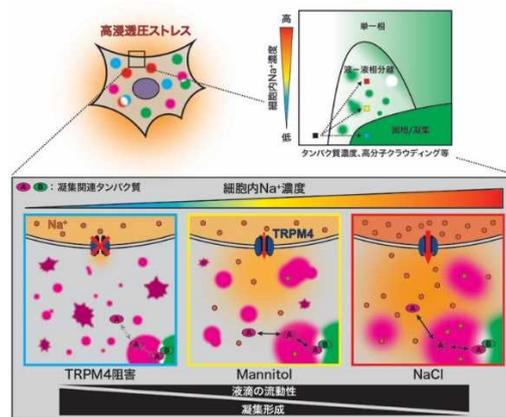


## Na<sup>+</sup>流入が細胞内の相制御に寄与する ——高浸透圧ストレス下における、細胞内液滴の流動性維持機構の解明——

### 発表のポイント

- ◆細胞内 Na<sup>+</sup>が、高浸透圧下で形成される液滴の流動性維持や凝集化抑制に寄与することを明らかにしました。
- ◆これまで、高浸透圧ストレス下における細胞内への Na<sup>+</sup>流入の役割として細胞内浸透圧調節が提唱されてきましたが、本研究は Na<sup>+</sup>流入が細胞内液滴の物性制御にも寄与するという新たな概念を提示する革新的なものです。
- ◆本研究は、ポリグルタミン病を初めとして凝集関連疾患に対する新たな治療戦略の開発に発展することが期待されます。



Na<sup>+</sup>流入による細胞内液滴の流動性維持機構のモデル図

### 発表概要

東京大学大学院薬学系研究科の森下和浩 大学院生、渡邊謙吾 特任助教（研究当時）、名黒功准教授、一條秀憲 教授による研究グループは、高浸透圧ストレス（注1）後に起こる細胞内への Na<sup>+</sup>流入が、液-液相分離（注2）により形成される液滴の流動性維持に寄与することを明らかにしました。

液-液相分離は近年生命科学分野で注目を集めている現象であり、細胞内液滴の形成により生体高分子の時空間的な局在・反応制御を可能にしています。液滴の持つ最も重要な性質の一つに「流動性」が挙げられ、液滴の流動性は分子の可動性や凝集化抑制に寄与することが提唱されてきました。液滴の流動性に影響を与える要素として、遺伝子変異や翻訳後修飾といった構成分子そのものの変化による原因は知見が蓄積しつつある一方で、細胞内における液滴の周辺環境の変化による流動性制御機構の解析は乏しいのが現状です。本研究では、細胞内で様々な液滴形成を惹起する高浸透圧ストレスを利用し、細胞外から細胞内へ TRPM4 を通じて流入する Na<sup>+</sup>が液滴の流動性維持や凝集化抑制に寄与することを複数のモデルタンパク質において明らかにしました。

本研究成果により、細胞内における幅広い相分離現象の理解に繋がると共に、凝集関連疾患に対する発症予防戦略・新規治療戦略の開発に発展することが期待されます。

## 発表内容

### 〈研究の背景〉

近年、多くの細胞内構造体が生体高分子の液-液相分離によって生じた液滴であることが報告され、液-液相分離を通じた生命現象の制御が数多く議論されてきました。これまで細胞内液滴の機能として、生体高分子の濃縮や隔離による生理的反応の制御、迅速な局在変化によるストレスの感知、構造体としての物理的な力の生成など様々な役割が報告されています。液滴の持つ最も重要な性質の一つに「流動性」が挙げられ、液滴の流動性は分子の可動性や凝集化抑制に寄与することが提唱されてきました。液滴の流動性制御因子として、遺伝子変異や翻訳後修飾といった構成分子そのものの変化による要因は知見が蓄積しつつある一方で、細胞内における液滴の周辺環境の変化による流動性の制御は解析は乏しいのが現状です。

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これまで、ストレス応答性 MAP3K である apoptosis signal regulating kinase (ASK) ファミリーを中心に据えた細胞の物理化学ストレス応答の解析に従事してきました。酸化還元状態、温度、pH、浸透圧といった細胞外環境の変化は、迅速に細胞内環境を変化させます。これらの変化は生体高分子間の結合力や結合様式に影響を与え、細胞内液滴の形成を惹起することが報告されてきました。そこで一條教授らは、細胞内の相状態を変化させるコンテキストとして物理化学ストレスの一つである浸透圧ストレスに着目し、液滴の物性に与える影響の解析を行いました。

### 〈研究の内容〉

渡邊謙吾特任助教（研究当時）らは浸透圧ストレス応答性キナーゼである ASK3 が高浸透圧ストレス後迅速に細胞内液滴 (ASK3 condensate) を形成し、細胞体積回復を初めとする浸透圧ストレス応答を惹起することを報告していました。本研究では、森下和浩大学院生らが ASK3 condensate の物性をさらに解析していく過程で、ASK3 condensate の流動性が高浸透圧ストレスの種類により変化することを見出しました。高浸透圧ストレスは浸透圧を調整する際に用いる溶質により種類が異なりますが、糖である mannitol と比較して、塩である NaCl で誘導した高浸透圧ストレスでは ASK3 condensate の流動性が上昇しました。これら二種類の高浸透圧ストレスにおける違いとして、NaCl 誘導性高浸透圧ストレスではストレス後の Na<sup>+</sup>の流入量が多いことが示唆されました。さらなる解析により、高浸透圧ストレス下での Na<sup>+</sup>流入を担うカチオンチャネルとして transient receptor potential melastatin 4 (TRPM4) を同定し、TRPM4 の阻害が ASK3 condensate の流動性低下に伴う凝集化に繋がることが明らかになりました。さらに TRPM4 による Na<sup>+</sup>流入の阻害下においては ASK3 の高浸透圧ストレス応答である脱リン酸化が阻害されました。ここで計算機シミュレーションにより、ASK3 condensate の流動性が失われた状態では、可動性を失った ASK3 が効率的に脱リン酸化酵素にアクセスできなくなることが示唆されました。

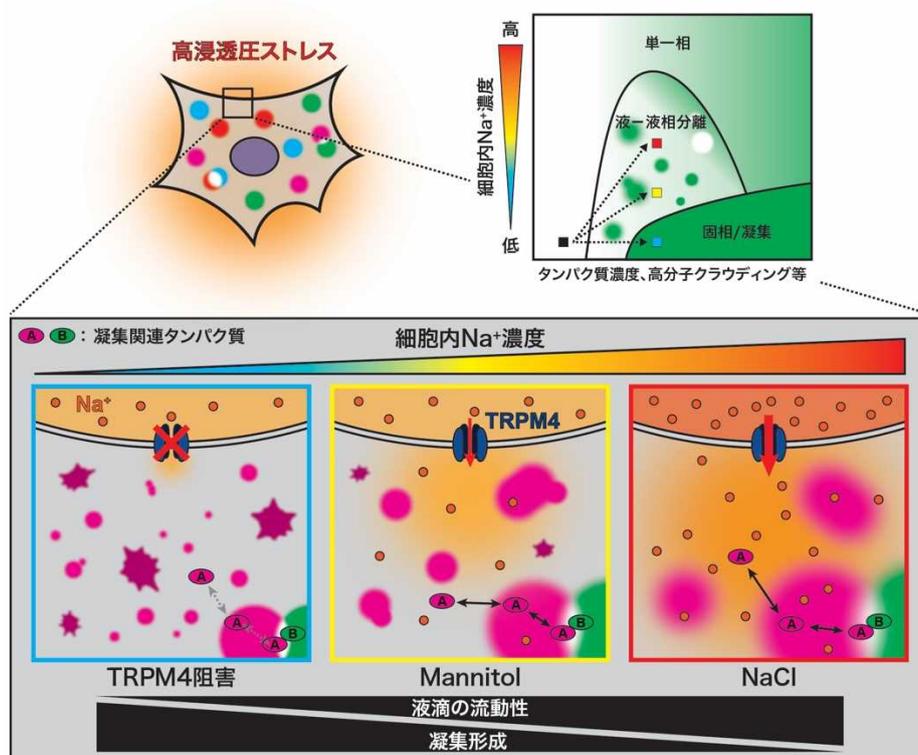
高浸透圧ストレスは ASK3 のみならず多種多様な液滴形成を惹起することが報告されていますが、細胞内 Na<sup>+</sup>は ASK3 に加えて、DCP1A や TAZ といったタンパク質から構成される複数種類の液滴の流動性維持にも寄与することが明らかになりました。さらに、高浸透圧ストレスは神経変性疾患関連タンパク質である凝集性分子 polyQ の凝集形成を促進することが知られていますが、高浸透圧ストレス依存的な Na<sup>+</sup>流入はこの polyQ の凝集抑制に寄与することも示唆され

ました。以上より、高浸透圧ストレス依存的なNa<sup>+</sup>流入が、同じく高浸透圧ストレス下で形成される細胞内液滴の流動性維持と凝集化抑制に寄与することが明らかになりました。

これまで、高浸透圧ストレス下における細胞内へのNa<sup>+</sup>流入の役割として細胞内浸透圧調節が提唱されてきましたが、本研究はNa<sup>+</sup>流入が細胞内液滴の物性制御にも寄与するという新たな概念を提示するものです。

#### 〈今後の展望〉

細胞内外での不均一なイオン濃度分布は、細胞が持つ最も基本的な特徴の一つであり、細胞・個体の生存において厳密な制御が求められます。特にこれまではNa<sup>+</sup>の動態が重要となる体液量調節や神経発火等でNa<sup>+</sup>輸送体と疾患との関連が提唱されてきました。本研究は、生体内でのNa<sup>+</sup>量変化が液滴の物性制御に寄与するという新たな概念を提唱するものであり、Na<sup>+</sup>恒常性という観点から凝集関連疾患に対する発症予防戦略・新規治療戦略の開発に発展することが期待されます。



図：Na<sup>+</sup>流入による細胞内液滴の流動性維持機構のモデル図

図中の Mannitol と NaCl は高浸透圧ストレスの誘導剤。右上図の赤/黄/水色四角は下図の枠の色と対応。

#### 発表者

東京大学大学院薬学系研究科

森下 和浩 (大学院生)

名黒 功 (准教授)

一條 秀憲 (教授)

Institute for Systems Biology

渡邊 謙吾 <研究当時：東京大学大学院薬学系研究科 (特任助教)>

## 論文情報

〈雑誌〉 Cell Reports  
〈題名〉 Sodium ion influx regulates liquidity of biomolecular condensates in hyperosmotic stress response  
〈著者〉 Kazuhiro Morishita, Kengo Watanabe, Isao Naguro, Hidenori Ichijo  
〈DOI〉 10.1016/j.celrep.2023.112315  
〈URL〉 [https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(23\)00326-1](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(23)00326-1)

## 研究助成

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）18H03995, 21H04760」、「基盤研究（B）18H02569, 22H02761」、「若手研究（B）17K15086」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）、科学技術振興機構のムーンショット型研究開発事業（ミレニアプログラム JPMJMS2022-18）の助成により実施されました。

## 用語解説

（注 1）高浸透圧ストレス：細胞外の浸透圧が細胞内より高いとき、細胞内から細胞外への水の流出とそれに伴う細胞収縮が引き起こされる細胞単位のストレス。

（注 2）液-液相分離：物理的状態・化学的組成が一樣な物質系の形態を相と言い、代表的な三相として固相・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する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に分離している現象がイメージしやすい。

## 問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学大学院薬学系研究科

准教授 名黒 功（なぐろ いさお）

Tel : 03-5841-4858 E-mail : nagurois@mol.f.u-tokyo.ac.jp

〈報道に関する問合せ〉

東京大学大学院薬学系研究科 庶務チーム

Tel : 03-5841-4702 E-mail : shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp