「生命システムの動作原理と基盤技術」
平成 18 年度採択研究代表者

黒田　真也

（東京大学大学院理学系研究科　教授）

「シグナル伝達機構の情報コーディング」

1. 研究実施の概要

生命現象は細胞内分子ネットワークであるシグナル伝達機構により制御されているが、その種類は入力刺激や細胞の応答に比べると少なく限られている。シグナル伝達機構の本質は、多彩な入出力を限られた種類の細胞内分子にコードすることにある。このコーディングには、入力の違いを活性化する分子の組み合わせにコードする以外にも分子活性の時間波形に情報をコードする時間情報コーディングがある。本研究では、情報コーディングの観点から、同じ刺激であっても時間波形に依存して異なる応答を示す生命現象である細胞運命決定とインスリン作用にフォーカスして、実験と微分方程式モデルを組み合わせて時間情報コーディングのメカニズムを解明する。また、細胞種に依存して各分子の発現量が異なるため、これらの刺激に対する応答は細胞種によっても異なる。その仕組みを各細胞種での発現量や応答の観測と統計的モデルを用いて明らかにする。これらのモデルを縮約してシグナル伝達の情報コーディングの基本原理を抽出する。

2. 研究実施内容

本研究計画では、主に時間情報コーディングの観点からシグナル伝達経路の動的特性を明らかにする目的で、同じ刺激であっても入力パターンが異なれば異なる応答を示す生命現象である ERK 経路による細胞運命決定機構や、一過性と持続性の時間波形を示すインスリンの標的細胞への作用機構を解析する。

I. ERK 経路による細胞運命決定機構

①ERKのデコード：PC12細胞においてNGF, EGF刺激のステップ、ランプ、インパルス刺激を加えてERKの一過性と持続性の波形を安定に作成できる条件を検討する。さらに、それらの刺激を用いて、一過性と持続性のERKの活性化に特異的に応答する遺伝子群をマイクロアレイを用いて同定する（図１）。その前段階としてNGFのステップ、ランプ、インパルス刺激による分化誘導をneuriteの長さを指標として検討した。その結果、ERKの一過性と持続性の活性化を誘導するNGFのステップの方が、ERKの持続性の活性化のみを誘導するランプ

刺激よりneuriteの長さを効率よく誘導できることを見出した。またERKの一過性の活性化のみを誘導するNGFのインパルス刺激ではneuriteの伸びは観察されなかった。したがって、neuriteの効率よい進展にはERKの一過性と持続性の活性化の両方が相乗的な効果をもたらしていることが示唆された。また、以下③で用いる一細胞レベルの多重免疫染色による時系列データを高速かつ大量に取得する手法の開発を試みた。具体的にはまずは、ERKのリン酸化などを指標に免疫染色の時間波形平均がwestern blotの結果と整合性の取れる条件の設定に成功した。これにより4分間隔でERKのリン酸化を自動的に計測することに成功した。

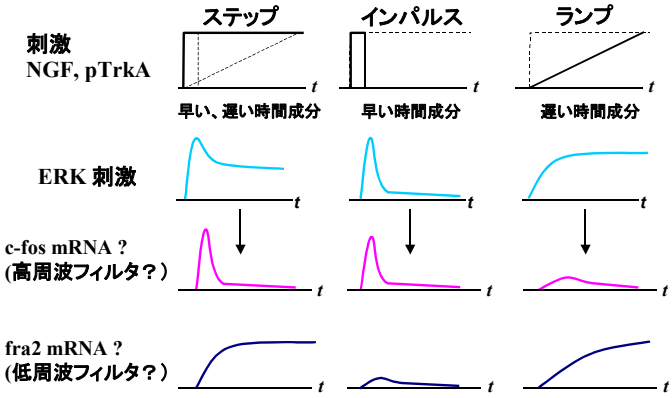

図1：ERKのデコード

③統計モデル構築：、AR モデルなどの時系列データの統計的モデルについてモデル化の方法を検討し、アルゴリズムの開発を開始した。まずは ERK のエンコード微分方程式モデルの時系列データから AR モデルを作成する手法を開発中である。

II. インスリン作用機構

④インスリン作用の時系列データ取得：培養肝細胞を用いて、モデル構築のための各シグナル伝達経路や遺伝子発現の時系列データや発現量データ取得を開始する。まずはインスリンのステップ刺激に対して、PDK1/PI3 kinase 経路などのシグナル伝達経路や、その下流の代謝関連遺伝子発現の時系列データを取得した。その結果、糖代謝関連遺伝子群と脂質代謝遺伝子群のうち一部は、同じインスリン刺激でも異なる時間波形を示すことが観測された。また、将来的には肝臓での応答を検証するが、その前段階として一次培養系肝細胞や Fao 細胞などの複数の細胞を用いてシグナル分子や遺伝子発現が共通の時間応答を示すかどうか検討中である。

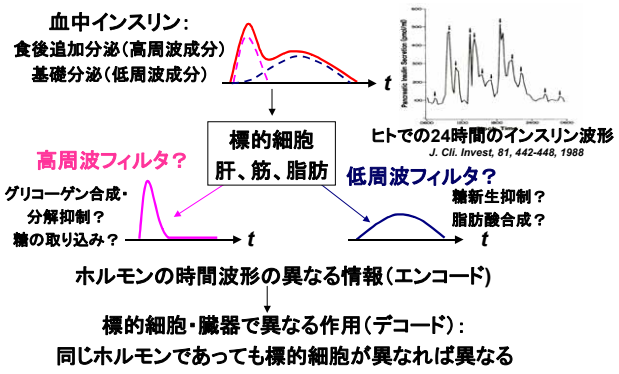

図4：インスリン作用における時間情報コーディング

⑤インスリン作用の個体レベル解析：インスリンの標的細胞（肝臓、脂肪、筋肉）における PI3-kinase/PDK1 シグナル伝達経路の下流に位置し、個々の代謝作用の発現に至る分子

機構の同定中であり、糖新生系遺伝子の発現制御に転写因子 KLF15 が、脂肪酸合成系遺伝子の発現制御に Stra13 が関与することを見出し、これらの転写因子の機能を解析中である。また、肝臓特異的に PDK1 を欠損するマウスを確立し、本マウスが２型糖尿病様の表現型を示すことを見出し、個体レベルにおける肝臓でのインスリンシグナルの意義付けを明らかとした。

3. 研究実施体制

(1)「黒田」グループ

①研究分担グループ長:黒田　真也(東京大学大学院　教授)

②研究項目

・ERK 経路の時間情報コーディング

・インスリン作用の時間情報コーディング

(2)「小川」グループ

①研究分担グループ長:小川　渉(神戸大学大学院　助教授)

②研究項目

・インスリンの標的細胞・臓器におけるシグナル伝達・代謝経路の解析

4. 研究成果の発表等

(1)論文発表(原著論文)

○Okamoto Y, Ogawa W, Nishizawa A, Inoue H, Teshigawara K, Kinoshita S, Matsuki Y, Watanabe E, Hiramatsu R, Sakaue H, Noda T, Kasuga M. Restoration of glucokinase expression in the liver normalizes postprandial glucose disposal in mice with hepatic deficiency of PDK1. Diabetes, in press