

ERATO「前田アクチンフィラメント動態プロジェクト」

追跡評価報告書

総合所見

アクチンは、真核生物に最も多量に存在するタンパク質分子の1つであり、力発生・細胞運動・形態形成・シグナル伝達など多様な機能に主要な役割を果たす生命の営みに不可欠な分子である。疾病に関しても、アクチンや多数のアクチン結合分子の変異が、心疾患や腫瘍に関わっていることが知られている。このように生命活動の基盤分子でありながら、機能体としてのアクチン複合体の構造および機能発現におけるアクチン構造の動態は、長きにわたり解明できなかった難問であった。

本プロジェクトは、アクチンフィラメントの構造を原子レベルで明らかにし、この難問を初めて解明した。細胞機能の最主要プレーヤーであるアクチンの構造解明であるゆえに、その研究の歴史を振り返ってみても、その意義は大きい。さらに、アクチン結合タンパク質の構造を決め、フィラメント形成の制御機構を明らかにした。それらを通して、フィラメント形成や他の分子との相互作用におけるアクチン分子構造変化の特性を解明した。これらの難問解決の技術的ブレークスルーとなったものは、新規の構造解析方法と試料タンパク質の大量調製法の確立である。また、本プロジェクトでは原核生物のバクテリアの持つアクチン・ファミリーの分子構造解析も進め、研究成果の広がりを見せた。

以上の研究成果は、その後、生命科学の広い分野にわたるアクチン関連分野の研究者の主要な拠り所となっている。得られた知見、分子間相互作用に関する新しい概念および新規研究手法は、本プロジェクト終了後さらに発展し、他分野へもインパクトを与えている。アクチン・ファミリーを形成する分子群は多種存在し多様な機能を果たしており、例えば、核内における遺伝情報の発現・複製・修復の制御における役割は、発生・再生など広範な生命現象に関わっていることが分かりつつある。それらについても、本プロジェクトが明らかにした機構に基づいて理解できると期待できる。また、本プロジェクトの研究成果は、基礎研究分野に留まらず、心疾患の原因究明、マラリア感染防御、脂肪細胞分化の制御機構の解明、新しい作用機序の抗がん剤開発などの応用研究や臨床分野にも大きな波及効果が期待され、開花しようとしている。

本追跡評価委員会は、本プロジェクトが基礎的・学術的に高い創造性をもたらすことに意義があると考え、主に、科学研究に対して、国際的に高いインパクトを与え、新しい潮流をもたらしたかを重視した。その結果、本プロジェクトは大きな研究の潮流を多方面に渡って創出し、独創的で先駆的な基礎的研究課題へ挑戦し成功させた例として、高く評価されると結論づけた。

1. 研究成果の発展状況や活用状況

アクチンフィラメント構造を原子レベルで明らかにした研究成果は、事後評価でも高く評価されたように、関連研究者の拠り所とする基本的な知見となり、広く細胞生物学に影響を与えた。本研究プロジェクト終了後、①アクチンフィラメント形成制御、②筋肉の細いフィラメントの構造解析、③アクチンが関与する分子メカニズムなどにおいて新たな展開がみられた。

①アクチンフィラメント形成制御は、細胞内器官の動き・細胞形態形成・細胞運動などに関わ

る基本的な機構である。その動的機能に関し、フィラメント端に結合するキャッピング分子との複合体構造を複数種解明し、アクチン重合・脱重合の動態を原子レベルの構造として明らかにした。アクチン重合のブレーキとなるフィラメント末端結合分子 Capping Protein (CP) に、制御タンパク質 V-1 と CARMIL ペプチドとが相互作用して、細胞運動の制御が行われるが、これまで V-1 と CARMIL が異なった機能を果たす理由が不明であった。本プロジェクト終了後の構造解析により、両者が異なる部位で CP に結合し、CP とアクチンフィラメント末端との相互作用を制御している分子機序が解明された。この研究成果は、アクチンの重合・脱重合速度の調節機構を明らかにしただけでなく、「結合分子構造の柔らかさを変化させて、分子間相互作用を制御する」という新しい概念をもたらしたことで注目される。分子間相互作用における“柔らかさ”“ループ結合”という新しい概念は、生体高分子の相互作用を理解するうえで本質的なものであり、当該分野のブレークスルーといえる。

②筋肉のカルシウム調節は、アクチンとトロポニン・トロポミオシンの複合体である細いフィラメントにより行われる。カルシウムによる筋収縮活性化にともなう細いフィラメントの構造変化については、本プロジェクトにおけるトロポミオシンの結晶構造解析、アクチンフィラメントおよび本プロジェクト以前に解かれたトロポニンの原子構造と合わせて、制御メカニズムとともに大阪大学基礎工学部生命工学科との共同研究で、詳細に解明された。これは、半世紀を超えて残されてきた問題を解いたもので、大きなインパクトを与える研究成果である。

③アクチンが関与する分子メカニズムの研究において、アクチンとミオシンが最も強く接触する 3 アミノ酸残基を同定したことは、最主要分子モーターの分子機構解明における基本的な知見であり、今後、長きにわたり引用され続け、当該研究分野に影響を与えられようと考えられる。

さらに、バクテリアが持つアクチンホモログの構造解析は、本プロジェクト実施期間中をはじめ、終了後の現在まで、継続的に論文発表が行われており、本プロジェクト終了後にさらに発展しており、新しい構造解析の流れを創り出した研究であるといえることができる。

これらの研究成果を得る上で開発された、X線回折と結晶解析・電子顕微鏡法・分子動力学とを複合させた新しい構造解析法は、構造解析分野の新しい手法として当該分野の研究に発展をもたらしている。いずれの技術も、今後とも利用されてゆく普遍的な技術として期待される。

2. 研究成果から生み出された科学技術的、社会的及び経済的な効果・効用及び波及効果

2.1 科学技術の進歩への貢献

アクチンに関わる研究は、その長い研究の歴史とこれまでに蓄積した大量かつ重要な知見から見ても、トップレベルのサイエンスの研究分野である。アクチンの機能を理解する際に提案される多くの仮説を検証する上で、アクチンフィラメントの構造、アクチンフィラメント端の構造を明らかにした研究成果は、当該分野の研究に対して、明確なマイルストーンを達成したと評価されている。

アクチンに関連する現象は生命機能における基盤的な現象である。本プロジェクトの研究成果論文は被引用件数が多いのみならず、そのインパクトの強さは、その後の論文被引用数の伸びや、広い分野にまたがる分野別引用データが明確に示している。生命機能における基本中の基本とも言える分子の構造を解明したものであるだけに、現在も広い分野に渡って研究成果が活用されて

いる。

2009年の「*Nature*, 457, 441-445」発表の論文は、同号のNews & Viewsにおいて、「アクチンが、モノマーから筋肉収縮や細胞運動に不可欠な安定なポリマー構造をどのように形成するか？という長年の疑問に答える最先端のアプローチである」と、Holmesが高く評価しており、この論文の被引用数が、2013年までに急増していることからみてもインパクトの大きい研究結果であることが推察される。

また、本論文は構造生物学以外の植物のアクチンの動態研究分野においても、アクチンモノマーからフィラメントへの遷移のメカニズム、植物の病原抵抗性とアクチンの動態研究の総説に引用されていることも興味深い。注目すべきことは、この論文が、工学、数学、物質科学等のバイオ以外の分野でも引用されていることである。

さらに、その研究成果は世界中で使われている大学レベルの生命科学の教科書に紹介されており、本研究は当該分野のみならず、広く生命科学における基礎を作り上げたと言える。

本プロジェクト終了後も、研究チームは、一貫してアクチンフィラメントの構造解析研究を進めてきているが、その構造解析にはX線結晶解析、NMR法が適用できず、フィラメントの直径が細いことから電子顕微鏡法での構造解析も困難である。これを克服すべく、電子顕微鏡による電子線トモグラフィー法を用いて細胞内アクチンフィラメントの極性決定やアクチンフィラメント結合タンパク質の分布決定を行っている。さらに、アクチンフィラメントだけでなく、蛍光顕微鏡と電子顕微鏡で同視野観察する相関顕微鏡法を含めての解析は、繊維状タンパク質複合体についての細胞内構造解析に不可欠なツールとなっている。

また、昆虫細胞によるタンパク質大量発現系の開発は、新たなタンパク質試料大量調製法として優れている。これらの画期的な方法の開発により、アクチン関連の様々なタンパク質複合体の構造解析にブレークスルーがもたらされ、他分野の研究へ応用可能な新規手法を創出したことは評価に値する。

前田研究総括らは、トロポミオシン、アクチンフィラメント、トロポニンなど細いフィラメントに関わる全ての分子の構造を原子レベルで明らかにし、これらの一連の研究成果を基に、カルシウムによる筋収縮活性化にともなう細いフィラメントの構造変化を詳細に解き明かした。これは、1968年に江橋節郎が日本の筋収縮研究において、カルシウムイオンが細胞内制御分子であることを世界で初めて発見し、カルシウム結合タンパク質としてトロポニンを同定した時から、半世紀以上にわたって多くの科学者が追い求め続けた筋収縮の分子機構の解明である。近年、筋収縮分子機構の重要性が忘れ去れようとしているが、歴史的に筋収縮研究は生命科学の主要な知見をもたらした分野であり、長期的な視座に立つとき、その業績の高さは評価される。

2.2 応用に向けての発展

アクチンは、力発生・細胞運動・形態形成・シグナル伝達といった生命の基本機能に加え、免疫の食細胞、膜輸送、脳の海馬での記憶など多様な機能に主要な役割を果たしている。さらに、アクチン・ファミリーを形成する分子群は多種多様な機能を果たしており、例えば核内における遺伝情報の発現・複製・修復の制御における役割は、発生・再生など広範な生命現象に関わっている。それゆえに、本プロジェクトの研究成果は基礎科学分野に加え、ライフサイエンスの広き

に渡って応用されようとしている。その例として、心疾患、感染、がん、脂肪細胞分化の制御からの新しい作用機序の抗がん剤の開発などがあげられる。

心疾患に関しては、心臓の生理、心疾患病理の分野で重要な役割を果たしているアクチンとトロポニン・トロポミオシンからなる筋肉の細いフィラメントは、カルシウムイオンによる心筋収縮制御の主役でありアクチンや多数のアクチン結合分子の変異や、トロポニンの遺伝的変異は遺伝性心疾患の原因であることが知られている。前田研究総括の成した細いフィラメントの構造解明は、これらの心疾患の分子機構解明に大きな役割を果たしている。また、最近、前田研究総括からトロポニンの構造の揺らぎが疾患に重要な役割を果たすという新しい概念が提示されている。今後、このメカニズムを標的とした創薬への応用の可能性も期待される。

マラリア原虫など真核生物の病原体では、感染過程における赤血球への侵入において、アクチンが重要な機能を果たしている。アクチン重合の阻害や安定化は、既に創薬に利用されている。本プロジェクトによるアクチン重合の原子レベル構造解明と分子機構解明は、この創薬応用に主要な役割を果たすと期待される。さらに、最近マラリア原虫におけるアクチンでは、長いフィラメントができないという発見があり、アクチン重合に関わる応用は予想外の展開がもたらされていくと考えられる。

がんに関しては、腫瘍細胞のアクチンフィラメントに作用する新規抗がん剤が開発されている。また、トロポミオシンのアイソフォームを標的にして神経関連の細胞腫生育を阻害する化合物が、2013年オーストラリアから報告され、臨床試験が始まろうとしている。

さらに、2014年に細胞骨格であるアクチンの動態変化が、脂肪細胞への分化制御に関わっているという日本国内のグループの発見により、がん幹細胞の形態を変化させて、正常な脂肪細胞へと誘導させるという新たながん治療戦略が提案されている。

このように、アクチンのみならず、アクチン結合タンパク質を標的とする創薬が展開されようとしており、アクチンフィラメントと、アクチン結合タンパク質との複合体構造を複数種明らかにした本プロジェクトの研究成果は、応用研究や臨床分野にも強い影響を与えている。

2.3 参加研究者の活動状況

本プロジェクトにおいて主要な役割を果たした複数の若手研究者は本プロジェクト終了後、准教授に2名、特任教授に1名が昇格し、シンガポールの国立分子細胞研究所の研究者として1名が職を得ている。これら若手研究者は、本プロジェクト終了後も論文を継続的に発表し活躍を続けている。

特に、「さきがけ」に採択された研究者1名は、風戸研究奨励賞や文部科学大臣若手表彰を受けており、優れた業績を上げつつある若手研究者が育っていることは評価される。

前田研究総括は、名古屋大学構造生物学研究センターの特任教授として、科研費基盤研究(S)や、民間財団からの寄付金で活発な研究を続けている。時流に流されることなく、アクチンとトロポニン・トロポミオシンの細いフィラメントとカルシウム制御機構、アクチン関連分子の構造決定という長年解かれることのなかった問題を解明し、独創的な研究成果を生み続けている。

3. その他

本プロジェクトは、「アクチンフィラメントとその複合体の構造を基にしてメカニズムを解明する」という基礎的・学術的に先駆的で高い創造性をもたらす目標のもとに発足したが、この目標と期待に十二分に答えているとともに、当初の想定を超えて応用分野にまで影響が広がり展開されている。

半世紀を超えて多くの研究者が試み解けきれなかったアクチンフィラメント、筋肉の細いフィラメントの構造とカルシウム制御機構を明らかにしたことは、生命科学の基盤となる創造知をもたらし、実利的な次元を超えて、学問の基礎に国際的・歴史的に真に大きな貢献をなした。これは、ERATO プログラムの目的を十二分に達成したプロジェクトであると評価できる。真に重要な基礎研究は、応用分野にも想定を超えて貢献する例であることを指摘しておきたい。

以上