

## C.elegansの全身性RNAiをモデルとした機能性RNAの輸送機構の解明

メタデータ	言語: 出版者: 東京女子医科大学学会 公開日: 2024-04-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 吉田, 慶太, 末廣, 勇司, 出嶋, 克史, 吉名, 佐和子, 三谷, 昌平 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10470/0002000118">http://hdl.handle.net/10470/0002000118</a>

の過剰発現では、Sema3Aによる樹状突起伸長作用が消失した。また生体脳へのY501Fの過剰発現は、皮質神経細胞の基底樹状突起の複雑さや総基底樹状突起長を減少させ、先端樹状突起には方向異常が見られた。これらの表現型はPtpδ<sup>-/-</sup>やFynノックアウトマウスでも同様であった。したがってPTPδはSIRPα Y501を間接的にリン酸化する一方で直接脱リン酸しており、このY501のリン酸化/脱リン酸化サイクルが基底/先端樹状突起発達を促進することを示している。

## 2. トロンボポエチンシグナルによる免疫調整機構の解析

(東京女子医科大学医学部解剖学(顕微解剖学・形態形成学分野) 矢作綾野・望月牧子・横溝智雅・石津綾子)

トロンボポエチン(Thpo)は造血幹細胞の維持、自己複製および巨核球・血小板産生に関与するサイトカインである。しかしながら感染・炎症などストレス応答にThpoがどのように関与するのかわからない。今回、炎症時の全身免疫応答と骨髓造血幹細胞による生体反応について解析した。

野生型マウスにLPSを腹腔内接種し、骨髓細胞への影響をフローサイトメトリーにて確認した。骨髓内造血幹細胞数は炎症に関わらず一定の細胞数を維持したが、巨核球-赤芽球前駆細胞(preMegE)数はLPS投与後速やかに低下、巨核球前駆細胞(MKP)および巨核球はLPS投与1日後に増加した。巨核球はストレス下において抗原提示細胞として機能することが報告されていることから、T細胞への抗原提示能の指標であるMHCクラスIIの発現量を解析した。その結果、巨核球に加え、pre-MegE、MKPにおいても発現上昇を認めた。骨髓免疫染色で細胞局在を確認したところ、LPS投与の骨髓はMKP、巨核球の指標となるCD41陽性細胞の近傍にT細胞が存在していた。一方、Thpo<sup>-/-</sup>はLPS投与後も造血幹細胞数、preMegE、MKP数が低下したままだった。以上によりLPSによって、血小板分化が速やかに誘導されること、Thpoは造血幹細胞数、PreMegE、MKPの細胞を調整することにより炎症が促進する可能性が示唆された。

## 3. *C. elegans*の全身性RNAiをモデルとした機能性RNAの輸送機構の解明

(東京女子医科大学<sup>1</sup>医学部生理学(分子細胞生理学分野)、<sup>2</sup>総合医科学研究所)

吉田慶太<sup>1</sup>・末廣勇司<sup>1</sup>・出嶋克史<sup>1</sup>・吉名佐和子<sup>1</sup>・三谷昌平<sup>1,2</sup>

生物にとって細胞間の情報伝達は重要である。近年、RNAが細胞外に分泌されて情報伝達に寄与することが

明らかになりつつある。しかしながら、RNAの細胞間伝播を調節する分子機構についてはまだよくわかっていない。線虫(*C. elegans*)では、RNAiを誘導する二本鎖RNA(dsRNA)が発現細胞外にも拡散して全身でRNAiの効果が現れ、全身性RNAiという現象が起きる。また、餌となる大腸菌にdsRNAを発現させることでも全身性RNAiが起きることから(feeding法)、標準的な遺伝子ノックダウン法として利用されている。一方で、全身性RNAiにおいてdsRNAの細胞間輸送を担う機構は未解明である。

我々は、線虫の全身性RNAiを機能性RNAの細胞間伝播モデルとして、その分子機構の解明を進めている。全身性RNAiに異常をきたす変異体のスクリーニングを実施したところ、REXD-1とTBC-3という2つの分子がdsRNAの伝播に関わることを見出した。これらの因子は、既知の全身性RNAi制御因子であるSID-5と冗長的に機能していた。REXD-1、TBC-3、SID-5のすべてを欠損した三重変異体株は、腸を除く組織においてfeeding法によるRNAiに強い耐性を示した。しかし、同株の擬体腔にdsRNAを直接注入した場合はRNAiが誘導された。これらの結果から、三重変異体株では腸からのdsRNAの分泌が強く阻害されていると考えられる。一方で、腸からのタンパク質の分泌は正常に起きていたことから、dsRNAの分泌の制御は特異的であることが示唆された。以上の結果より、線虫の全身性RNAiにおいてdsRNAの分泌を制御する分子経路が明らかになった。今後、関連する分子などを明らかにしていくことで、機能性RNAの輸送機構の理解がさらに進むことが期待される。

## 4. ヒトiPS細胞由来心臓組織におけるコネキシン43の抑制は、心筋細胞増殖を介して収縮力を向上させる

(東京女子医科大学<sup>1</sup>先端生命医科学研究所、<sup>2</sup>循環器内科) 高田卓磨<sup>1,2</sup>・

松浦勝久<sup>1,2</sup>・飯田達郎<sup>1,2</sup>・小池達也<sup>1,2</sup>・

佐々木大輔<sup>1</sup>・山口淳一<sup>2</sup>・清水達也<sup>1</sup>

〔緒言〕コネキシン43(Cx43)は、心臓の同期的収縮に重要な役割を果たすことが報告されている。しかし、Cx43が直接的に心筋組織の収縮力向上に寄与するかわからない。我々は以前、ヒトiPS細胞由来(hiPSC)心筋組織全体の収縮力の直接測定と組織内の細胞レベルでの収縮同期性の評価に成功した。それらの技術を用いて、Cx43をコードするGJA1遺伝子の制御が心筋組織全体の収縮力と同期性に及ぼす影響を検証した。〔対象と方法〕アデノ随伴ウイルスを用いて、hiPSC心筋組織のGJA1の過剰発現またはノックダウン(shGJA1)を行った。拍動数を電気刺激下(60回/分)に統一した上で組織の収縮力を直接測定し、同期性を運動解析にて評価した。