

## 分子モータータンパク質 KIF1B $\beta$ による ニューロンの生存・再生機構の解明

### 1. 発表者：

徐 方（研究当時：東京大学大学院医学系研究科 寄付講座 分子構造・動態・病態学 特任研究員）

高橋 光規（研究当時：東京大学大学院医学系研究科 修士課程学生）

田中 庸介（東京大学大学院医学系研究科 細胞構築学分野 講師）

一ノ瀬 聡太郎（東京大学大学院医学系研究科 寄付講座 分子構造・動態・病態学 特任研究員）

丹羽 伸介（研究当時：東京大学大学院医学系研究科 寄付講座 分子構造・動態・病態学 特任研究員）

Matthew P. Wicklund（コロラド大学 教授、研究当時：ペンシルバニア州立大学 教授）

廣川 信隆（東京大学大学院医学系研究科 寄付講座 分子構造・動態・病態学 特任教授）

### 2. 発表のポイント：

- ◆ 分子モーター「KIF1B $\beta$ 」（注1）が「インスリン様成長因子1受容体」（IGF1R、注2）を軸索（注3）の末端へ輸送し、ニューロンの生存・再生を支えていることを明らかにした。
- ◆ この分子モーターのノックアウトマウスを作ったところ、脳や末梢神経の発達が悪くなり、神経難病の症状を示した。このニューロンは「インスリン様成長因子I」（IGF-I、注4）に対する「IGFシグナル伝達」（注5）が低下しており、これが症状の主な原因と考えられる。
- ◆ 一方、ヒトの遺伝性神経難病「シャルコー・マリー・トゥース病」（注6）の複数の家系から KIF1B $\beta$ 遺伝子の新しい変異を検出し、この変異によって IGF1R の輸送が障害されることを確認した。すなわち、KIF1B $\beta$ の機能異常による IGFシグナル伝達の低下が、神経難病等の神経変性疾患の病因の一部である可能性が高い。
- ◆ 今後このノックアウトマウスを用いることで、IGFシグナル伝達の低下が関係する神経難病、アルツハイマー病、パーキンソン病などの精神・神経疾患、ならびに IGFシグナル伝達の亢進が関係する一部のがんについて、その治療法開発が大きく進むことが期待される。

### 3. 発表概要：

われわれのあらゆる細胞の中には、微小管の線維に沿って細胞の中心と周縁を結ぶ物質輸送のシステムが張りめぐらされ、45種類以上のキネシン分子モーターが、さまざま

まな種類の積荷複合体を秩序だてて輸送している。ことに神経細胞(ニューロン)は軸索という長い突起を持つが、軸索の中ではほとんどタンパク質は合成されないので、その中で必要な物質は分子モーターによる「軸索輸送」(注 7)によって供給されている。一方、それぞれの細胞の状態は「細胞内シグナル伝達」によってグローバルに規定されており、ことに細胞表面に提示されている「レセプター型チロシンキナーゼ」(注 8)と呼ばれる受容体群は、おのおのの受容体に特異的な成長因子群(growth factors)を結合して細胞内の MAPK/PI3K カスケード等の「シグナル伝達」のトリガーとなり、これが細胞の生存や再生を促進する。これらのシグナル伝達が十分でないで細胞は死んでしまうが、一部のがんにおいては、逆にこれらのシグナル伝達が異常に亢進したために細胞の増殖が止まらなくなっている。これまで分子モーターは「シグナル伝達」の手足となり細胞機能を直接的に調節する分子群と信じられてきたが、ここ数年の本研究グループの研究により、分子モーターが逆に、レセプター型チロシンキナーゼ等のシグナル伝達分子を細胞内の必要な位置に配置していくことが明らかとなっており、細胞内シグナル伝達を空間的・時間的に調節する新しいパラダイムとして脚光を浴びている。

東京大学大学院医学系研究科 寄付講座 分子構造・動態・病態学の廣川信隆特任教授、細胞構築学分野の田中庸介講師、分子構造・動態・病態学の徐方特任研究員(研究当時)らは今回、KIF1B $\beta$ 分子モーターがレセプター型チロシンキナーゼの一つ IGF1R を軸索輸送し、IGF シグナル伝達を通してニューロンの生存や再生に必須な役割を果たしていることを発見した。研究チームはマウスにおける実験的な *Kif1b* 遺伝子欠損ならびに、神経難病であるシャルコー・マリー・トゥース病の患者家系における KIF1B $\beta$ タンパク質の新しい遺伝的変異によって IGF1R の軸索輸送が低下し、IGF シグナル伝達によるニューロンの軸索伸長過程と生存が障害を受けていたことから、KIF1B $\beta$ のニューロンの生存・再生における重要性を裏付ける証拠を得た。

この研究は、分子モーターによる細胞内シグナル伝達の新しい動的制御機構を同定するとともに、IGF シグナル伝達に関与する種々の神経難病、アルツハイマー病、パーキンソン病、がん等の新規治療法の開発に道を開くものである。

#### 4. 発表内容：

キネシンスーパーファミリータンパク質(KIFs)は細胞内の物質輸送を担う分子モーターであり、機能分子の局在や活性を制御することで細胞の生命や機能を維持する重要なタンパク質群である。特に神経系の維持に必須な分子モーター「KIF1B $\beta$ 」がかかわる分子機構に関しては、まだあまり研究が進展していなかった。東京大学大学院医学系研究科 寄付講座 分子構造・動態・病態学の廣川信隆特任教授、細胞構築学分野の田中庸介講師、分子構造・動態・病態学の徐方特任研究員(研究当時)らの研究グループは、この KIF1B $\beta$ 分子モーターに注目し、ノックアウトマウスとヒト疾患ゲノムの解析から、KIF1B $\beta$ が IGF1R を輸送することによって、ニューロンの生存・再生に大きな役割を果

たしていることを明らかとした。

これまで **KIF1B** 遺伝子の働きを破壊したマウスを作成したところ、進行性に筋力低下などの神経症状があらわれ、ヒトの神経難病と類似した表現型を示すことが明らかとなっていた。また臨床家との共同研究によって、ヒトの遺伝性神経難病、シャルコー・マリー・トゥース病の患者家系で、**KIF1B** のモーター活性が失われるゲノム変異を同定していた。しかしこの神経症状の発症メカニズムはこれまでまったく不明であり、神経難病の治療はほぼ対症療法に頼るしかないことが現状である。

そこでまず **KIF1B** ノックアウトマウスの脳の切片を詳細に検討したところ、左右の脳をつなぐ脳梁とよばれる構造など、ニューロンの軸索の伸長に重篤な障害が出ていることが明らかになった。この軸索伸長の障害と細胞死の増加は、ノックアウトマウスの海馬ニューロンを培養皿の上に分散培養し、そこから軸索を再生させる系においても裏付けられた。これらの表現型が、**IGF-I** や **IGF1R** など、**IGF** シグナリングに関わる因子のノックアウトマウス表現型と類似していたため、酵母 2 ハイブリッド法・免疫沈降法・タイムラプス顕微鏡法などによって検索した結果、**IGF1R** 分子の細胞内ドメインが **KIF1B $\beta$** モーター分子の主軸ドメインと直接結合し、**KIF1B $\beta$** モーターによって輸送されていることが示唆された。

次に、免疫蛍光染色法や細胞表面ビオチン化アッセイ等の方法により、細胞表面に出ている **IGF1R** 分子の量を測ってみると、**KIF1B** ノックアウトニューロンではこれが顕著に減少していた。また、ニューロンの軸索をマイクロ流体デバイス中の並行した溝に沿って培養する系を用いると、軸索遠位部まで運ばれる **IGF1R** の量がノックアウトニューロンでは顕著に減少していることが明らかとなった。またその結果として、ニューロンを **IGF-I** で刺激したときの細胞内シグナル応答である **Akt** や **ERK** のリン酸化やそれによる神経突起の伸長も顕著に障害されていた。これらの結果は、**Akt/ERK** シグナル伝達の上流にある **Ras** の活性型分子の強制発現によってレスキューされたため、**IGF-I** が結合した **IGF1R** レセプター由来の細胞内シグナル伝達の異常がこの **KIF1B** マウス表現型の基礎になっていることが裏付けられた。

ここで、シャルコー・マリー・トゥース病の患者家系からゲノムを採取して検討した結果、他の既知の病因遺伝子の変異が見られない家系において、**KIF1B $\beta$** モーター分子の主軸ドメインにある 1087 番目のチロシンがシステインに変化するアミノ酸置換が生じていることが、複数の患者さんのゲノムで明らかとなった。この変異は、上記で同定した **IGF1R** 結合ドメインにちょうど合致していたため、**IGF1R** ないし、他のカーゴであるシナプス小胞前駆体との結合を生化学的に比較してみると、**IGF1R** との結合だけが特異的にこのアミノ酸置換によって障害を受けていたことが明らかとなった。

さらにこの変異分子の性質を明らかにするため、**KIF1B** ノックアウトマウス脳から培養したニューロンに正常型の **KIF1B $\beta$** 遺伝子と患者型の **KIF1B $\beta$** 遺伝子を導入することで、表現型の回復度を定量的に評価した。ニューロンの細胞表面の **IGF1R** レセプター

量ならびに軸索の長さを検索してみると、正常型の遺伝子導入では野生型のレベルまでいずれもレスキューされたものが、患者型の遺伝子導入ではほとんどレスキューされなかった。すなわちこれらの神経難病の症状をもたらすニューロンの異常を、機能が低下した KIF1B $\beta$ モーターによる IGF1R の輸送不全によってほぼ説明することができた。

以上の研究結果から、次のようなことが示唆された。まず、主要な神経難病であるシャルコー・マリー・トゥース病の原因として、KIF1B $\beta$ 分子モーターの変異が重要な意味をもつことが複数の家系の検索とノックアウトマウスの解析の双方から同定された。これは「分子モーター」の機能異常が、実際に重篤なヒト神経疾患をもたらすことの分子遺伝学的な実証である。また、KIF1B $\beta$ 分子モーターによる IGF1R の輸送メカニズムの発見は、これまで長らく不明だったニューロンの生存・再生機構におけるキネシン分子モーターの役割を分子レベルで明らかにするものである。IGF1R シグナル伝達の障害は、神経難病や、アルツハイマー病、パーキンソン病などの精神・神経疾患を悪化させるものと考えられており、将来的にはこのノックアウトマウスに IGF を投与するなどの研究により、これらの精神・神経疾患のより根本的な治療戦略の開発が期待される。またこれとは逆に、がん細胞の一部では IGF シグナル伝達が異常に亢進することによって細胞の異常な増殖や悪性化が起こることが知られている。このようながん組織において特異的に KIF1B $\beta$ モーターを不活性化することができれば、新しい角度からのがんの治療戦略に道が開かれる。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名；Journal of Cell Biology 8月20日オンライン版（米国東部夏時間）

論文タイトル：KIF1B $\beta$  mutations detected in hereditary neuropathy impair IGF1R transport and axon growth

著者：Fang Xu, Hironori Takahashi, Yosuke Tanaka, Sotaro Ichinose, Shinsuke Niwa, Matthew P. Wicklund, Nobutaka Hirokawa

DOI 番号：

アブストラクト URL：

## 6. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科細胞生物学・解剖学教室

特任教授 廣川 信隆

Tel：03-5841-3326

E-mail：hirokawa@m.u-tokyo.ac.jp

## 7. 用語解説：

（注1）分子モーター「KIF1B $\beta$ 」：

神経系などに多く発現するキネシンスーパーファミリーたんぱく質の一種。45種類あるキネシン分子モーターは微小管というレールに沿って積み荷を運び、精神疾患をはじめ糖尿病・発がん・胎児の発生などにさまざまな重要な役割を果たしている。

(注2) インスリン様成長因子1受容体(IGF1R) :

細胞表面に発現されているレセプター型チロシンキナーゼ(注8)の一つで、特にインスリン様成長因子(IGFs)を結合して細胞の生存・増殖・再生などを支える分子。1は算用数字の1である。

(注3) 軸索 :

ニューロン(神経細胞)の突起のうち、電気信号を他に伝えるためひとときわ長く伸びているもの。ヒトでは1m以上の長さになるものがある。

(注4) インスリン様成長因子I (IGF-I) :

ソマトメジンCとも呼ばれる。神経細胞やグリア細胞などから分泌される増殖因子と呼ばれる小さなたんぱく質の一つ。細胞表面のインスリン様成長因子受容体(IGFRs)に結合して、細胞の生存・増殖・再生などを支える。膵β細胞から分泌され血糖値を調節するホルモンであるインスリンの近縁分子だが、血糖調節機能はほとんどない。Iはローマ数字のIである。

(注5) IGFシグナル伝達 :

IGFが細胞表面のIGF1Rに結合すると、IGF1Rが自己リン酸化して活性化し、下流のアダプター分子の挙動の変化を介して、PI3Kシグナリング経路とMAPKシグナリング経路を活性化する。この結果として、ニューロンの生存・増殖や、がん細胞の悪性化が進行する。

(注6) 神経難病「シャルコー・マリー・トゥース病」:

遺伝性の指定難病の一つで、特に末梢神経の運動・感覚の障害が進行性に生じ、歩行その他の重篤な障害を生じる。1/2,500~1/10,000の罹患率をもつ。

(注7) 軸索輸送 :

時には1mにも達する軸索の末端まで必要な物質を行きわたらせるため、微小管というたんぱく質線維のレールを走る分子モーターによって、これらの積み荷分子をアクティブに輸送するメカニズムが特に発達している。これを軸索輸送と呼ぶ。

(注8) レセプター型チロシンキナーゼ :

増殖因子受容体の一群で、細胞膜上に発現されており、増殖因子が結合することで数分以内に特定のたんぱく質のチロシン残基をリン酸化する酵素活性が強化され、PI3K経路やMAPK経路などにおいてAktやERKを含む細胞内の一連のたんぱく質のリン酸化や特定のリン脂質の代謝などが亢進する結果、細胞の増殖や運動性、形態の変化や生存率の上昇などの反応が惹起される。FGF, EGF, NGF, IGFなどの増殖因子の種類によってそれぞれの受容体が特異的に結合する。ここ数年の研究から、それぞれのレセプター型チロシンキナーゼは異なるキネシン分子モーターによって運び分けられていることが明らかとなりつつある。

## 8. 添付資料：

図1. KIF1B $\beta$ によるIGF1R分子輸送とニューロンの生存・再生メカニズム

