

タンパク質のクラスター化によるシグナル増強！？

大久保佑亮

多細胞生物では、細胞間でやり取りされるシグナル伝達因子を受容体が受け取り応答することで、細胞の増殖や分化などが制御され、生命が形作られている。このことはシグナル伝達を人為的に制御することで、培養細胞や生体細胞の分化やその他機能を制御可能であることを示唆している。実際、iPS細胞やES細胞などの多能性幹細胞を用いた再生医療では、培地中にシグナルタンパク質を添加することにより目的の細胞に分化させる試みが長年続けられており、非常に多くの成果が得られている。しかしながら、シグナルタンパク質の中には単に培地に添加しただけでは十分にシグナルを活性化できないものもあるのが現状である。

今回、その課題を克服できる可能性のある、シグナルタンパク質をクラスター化することでシグナル伝達を強化する技術を紹介したい。

これまで一部のシグナル伝達では、リガンドが膜受容体に結合した際の刺激により細胞膜に散在していた膜受容体が集合することが報告されている(図1上)¹⁾。そこで、あらかじめリガンドをクラスター化しておくことで、集合して来た受容体とクラスター化リガンドが効率よく結合し、シグナルが飛躍的に増強されるというアイデアがこの技術の基になっている(図1下)。たとえば、生体の神経幹細胞から神経細胞への分化制御に関与するシグナル伝達分子 ephrin は、単離した神経幹細胞の培養系に添加しただけでは Eph 受容体の集合、および ephrin/Eph シグナルの活性化を十分に誘導できず、結果として神経細胞への分化を促進できないことが知られている。

そこで Conway らは、ephrin を高分子量の生体物質であるヒアルロン酸上でクラスター化した。具体的には

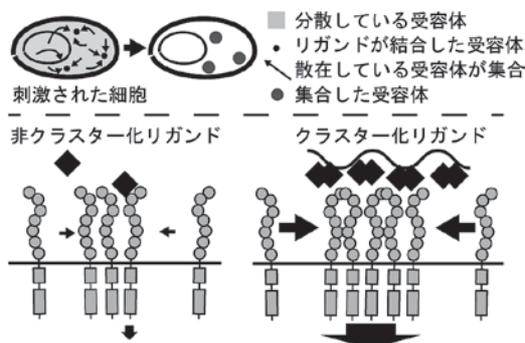


図1. リガンドの結合により散在していた受容体が集合する(上)。単にリガンドを加えた時に比べ、クラスター化リガンドは受容体との結合数が増え、シグナルが増強される(下)。

ephrin の C 末端にシステインを人工的に付加し、ヒアルロン酸のカルボキシル基と 2 段階の化学反応を用い高密度で結合させた。このクラスター化 ephrin を神経幹細胞の培養系に添加すると、細胞膜上の Eph 受容体が集合し、ephrin-Eph の局所的な結合が増強され、その結果、神経細胞への分化が促進されることが明らかとなっている¹⁾。加えて、クラスター化 ephrin をラットの脳海馬に注入することで生体神経幹細胞の神経新生が促進されることも報告されている。

このように、クラスター化した ephrin タンパク質は *in vitro*, *in vivo* 問わず、シグナル伝達を増強可能であることが示されている¹⁾。

このタンパク質のクラスター化によるシグナル増強技術は、用いるタンパク質や支持体を変更することで ephrin-Eph 以外のシグナルや神経幹細胞以外の細胞にも適用可能であることが示されており、幅広い応用が期待されている。

たとえば、ヒアルロン酸を用いてクラスター化された線維芽細胞増殖因子 (FGF) やソニックヘッジホッグ (Shh) は、それぞれヒト臍静脈内皮細胞の増殖やニワトリしょう尿膜の血管新生を促進することが報告されている^{2,3)}。また、金ナノ粒子を核とした脂質膜に上皮成長因子 (EGF) を組み込むことでクラスター化し、EGF シグナルを増強可能であることも報告されている⁴⁾。

タンパク質のクラスター化は、用いるタンパク質や支持体ごとに条件を調整する必要があるなどの課題もあるが、機能不全型のタンパク質をクラスター化することで細胞膜上の受容体のクラスター化を引き起こし、それらとの結合を独占することで内在性のリガンドを介したシグナルを劇的に抑制できる可能性など、シグナルの活性化以外の幅広い用途への発展性が期待されている。

今後、クラスター化タンパク質を用い、これまで扱いきれなかったシグナル伝達を制御することで、iPS細胞やES細胞から目的細胞への分化誘導効率の更なる向上が期待される。また、クラスター化タンパク質は生体においてもシグナル制御が可能であることから、がんなどの疾患に対する治療への応用も考えられ、注目して行きたい技術である。

- 1) Conway, A. et al.: *Nat. Nanotechnol.*, **8**, 831 (2013).
- 2) Zbinden, A. et al.: *Biomater. Sci.*, **6**, 1076 (2018).
- 3) Wall, S. T. et al.: *Bioconjug. Chem.*, **19**, 806 (2008).
- 4) Zhang, Q. and Reinhard, B. M.: *ACS Nano.*, **12**, 10473 (2018).