

医学博士鍋島陽一氏の「Klotho family」の

発見とその分子機能の解析を基盤とした

生体恒常性維持機構の研究」に対する

授賞審査要旨

鍋島陽一氏は分子遺伝学を基盤としつつ、多面的な解析手法を組み合わせて「動物個体の形成と機能維持の分子機構」の研究を展開してきた。その研究は(1) Alternative splicingにより一遺伝子から複数のタンパク質が合成される機構の発見、(2) 筋細胞の増殖・分化・再生を制御する遺伝子プログラムの研究、(3) 中枢神経系の発生、形成を制御する遺伝子プログラムの研究、(4) 幹細胞制御の分子機構の研究を中心とする「動物個体の発生・形成の分子機構に関する研究」、ならびに Klotho ファミリーの発見とその生理機能、分子機能の解析を基盤とした「動物個体の恒常性維持機構の研究」に大別される。いずれも生命科学の基本命題の解明に関わる重要な研究であり、その成果は国際的に高い評価を得ている。とりわけ、Klotho 遺伝子ファミリーの発見に基づく恒常性維持機構の研究は、カルシウム代謝に関するこれまでの概念を一新し、また、胆汁

酸／コレステロール代謝、代謝性 FGF の作用に関する新たな仕組みの発見をもたらし、更に蛋白間相互作用における糖鎖の新たな機能の提唱、加齢性疾患の治療法開発へと展開したものであり、特筆に値する。以下にその概要を記載する。

(1) 多彩な老化類似症状を示す α -Klotho 変異マウスの発見

鍋島氏は一九九七年、ヒトの老化症状に類似した多彩な変異表現型を示すマウスを発見、原因遺伝子 α -Klotho を同定した。次いで、 α -Klotho は β -glycosidase のホモログであり、腎尿管、上皮小体、脈絡叢で主に発現しており、細胞質型、細胞膜型、分泌型として存在することを示した。また、同氏は α -Klotho 遺伝子の発現が顕著に亢進した患者を発見し、他のグループが発見したミスセンス変異と併せて α -Klotho 遺伝子の変異に基づくヒト疾患の存在を確認した。本研究は一遺伝子の機能欠失により多彩な老化疾患類似症状が生じることを最初に示したものであり、老化研究に大きなインパクトを与えた。

(2) α -Klotho の生理機能の解明

α -Klotho の作用機作の解析は困難を極めたが、鍋島氏は α -Klotho 結合蛋白として Na^+ , K^+ -ATPase を同定することにより端緒を開いた。 α -Klotho・ Na^+ , K^+ -ATPase 複合体は ER, Golgi 体を輸送され、エンドソームに蓄積しており、細胞外カルシウム濃度の低下に応答し

て素早く細胞表面へと移動し、 Na^+ 、 K^+ -ATPaseの細胞表面量(機能)が増大することを見いだし、同氏は Na^+ 、 K^+ -ATPaseの機能を制御する新たな機構を提唱した。次いで、同氏は Na^+ 、 K^+ -ATPaseの機能允進の結果として作り出された Mg^{2+} の濃度勾配、膜電位の変化によって遠位尿管におけるカルシウムの再吸収、脈絡叢における脳脊髄液へのカルシウムの輸送、副甲状腺におけるPTHの分泌が誘導され、血液、脳脊髄液のカルシウム濃度が制御されることを示し、細胞質型 α -Klothoの機能を説明した。また、細胞膜型 α -KlothoはFGF23、FGFR1と複合体を形成してビタミンD合成を抑えることを示し、上記結果と併せて「 α -Klothoはカルシウム恒常性の制御因子である」と提唱した。本研究により、カルシウム代謝は「時間軸にそった多段階の反応の組み合わせ」と「複雑な相互作用、フィードバック機構」によって制御されており、結果として血液・体液、脳脊髄液のカルシウム濃度が迅速に調整され、狭い範囲に保持されることが解明された。本研究はカルシウム恒常性維持機構の理解を大きく進展させ、教科書の記載を一新するものである。

(3) α -Klothoの分子機能の解明

鍋島氏は、 α -Klothoの分子機能の解明に取り組み、 α -Klothoは極めて弱い β -Glucuronidase活性をもつこと、即ち、グルクロン酸結合モチーフをもつことを突き止めた。次いで、全ての α -Klotho結合

タンパク質の糖鎖は一定の割合でグルクロン酸修飾を受けていること、並びに「このグルクロン酸を α -Klothoのグルクロン酸結合モチーフが認識し、特異的/選択的な結合を実現していることを証明し、「 α -Klothoはグルクロン酸を認識する新規レクチン様因子として機能している」と結論した。更に、FGF23より同定した特殊な新規O型糖鎖(末端はグルクロン酸)が α -Klothoに結合し、 α -KlothoをFGF23と結合しやすい状態へとシフトさせる機構を解明、「タンパク間相互作用における糖鎖の新たな機能」を提唱し、蛋白質科学・糖鎖科学に一石を投じた。

(4) 多彩なヒト老化類似疾患の治療法開発に関する研究

μ カルパインの顕著な活性化が α -Klotho変異マウスの多彩な老化類似症状をもたらす要因であることを見いだし、阻害剤投与により動脈の石灰化、骨密度の低下、骨の形成異常、肺気腫、皮膚の老人性萎縮などの多様な症状が顕著に改善することを確認し、カルパインの活性制御が重要な創薬ターゲットであることを示した。また、動脈の石灰化と動脈における骨形成遺伝子の発現、FGF23の異所性発現が連動していることを確認し、血清FGF23濃度が動脈の石灰化の指標となることを示した。

(5) β -Klothoの同定と機能の解明

β -Klotho遺伝子を同定、 β -Klothoが肝臓において胆汁酸合成を負

に制御する機構を解明した。次いで、 β -Klotho は Na^+ , K^+ -ATPase と複合体を形成すること、細胞外の非必須アミノ酸濃度の上昇が β -Klotho/ Na^+ , K^+ -ATPase 複合体の膜への移動を誘導する)などを発見し、アミノ酸代謝の全く新しい制御機構の解明へと展開してこる。また、上記の研究を統合して、 α -Klotho, β -Klotho システムの共通性を導きだし、恒常性維持機構における Klotho family の位置づけ、重要性を示した。

これらの研究は老化研究の最先端を担う研究であり、また、恒常性維持機構、並びに蛋白質科学・糖鎖科学の新たな領域を開いた研究である。よって、日本学士院賞に値する。

主要論文目録

- 1) Nabeshima Y., Fujii-Kuriyama Y., Muramatsu M., and Ogata K. Alternative transcription and two modes of splicing result in two myosin light chains from one gene. **Nature** 308 (5957), 333–338 (1984)
- 2) Nabeshima Y., Nabeshima Y., Nomomura Y., and Fujii-Kuriyama Y. Non-muscle and smooth muscle myosin light chain mRNAs are generated from a single gene by the tissue specific alternative RNA splicing. **J. Biol. Chem.** 262 (22), 10608–10612 (1987)
- 3) Nabeshima Y., Hanaoka K., Hayasaka M., Esuni E., Li S., Nonaka I., and Nabeshima Y. Myogenin gene disruption results in perinatal lethality because of severe muscle defect. **Nature** 364 (6437), 532–535 (1993)
- 4) Hoshino M., Matsuzaki F., Nabeshima Y., and Hama C. *hikaru genki*, a CNS-

- specific gene identified by abnormal locomotion in *Drosophila* encodes a novel type of proteins. **Neuron** 10 (3), 395–407 (1993)
- 5) Hirata J., Nakagoshi H., Nabeshima Y., and Matsuzaki F. Asymmetric segregation of the homeodomain protein Prospero during *Drosophila* development. **Nature** 377 (6550), 627–630 (1995)
 - 6) Yagami-Hironaka T., Sato T., Kurisaki T., Kanijo K., Nabeshima Y., and Fujisawa-Sehara A. A metalloprotease-disintegrin participating in myoblast fusion. **Nature** 377 (6550), 652–656 (1995)
 - 7) Yoshida S., Fujisawa-Sehara A., Arai K., and Nabeshima Y. Lysophosphatidic acid and bFGF control different modes in proliferating myoblasts. **J. Cell Biol.** 132(1-2), 181–193 (1996)
 - 8) Ikeshima-Kataoka H., Skeath J.B., Nabeshima Y., Doe C.Q., and Matsuzaki F. Miranda directs Prospero to a daughter cell during *Drosophila* asymmetric divisions. **Nature** 390 (6660), 625–629 (1997)
 - 9) Some M., Hoshino M., Suzuki E., Saigo K., Nabeshima Y., and Hama C. Still life, a protein in synaptic terminals of *Drosophila* homologous to GDP-GTP exchangers. **Science** 275 (5299), 543–547 (1997)
 - 10) Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H., Kawaguchi H., Suga T., Utsugi T., Ohyama Y., Kaname T., Kume E., Iwasaki H., Iida A., Shiraki-Hida T., Nishikawa S., Ryozo N., and Nabeshima Y. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. **Nature** 390 (6655), 45–51 (1997)
 - 11) Some M., Suzuki E., Hoshino M., Hou D., Kuroki H., Fukata M., Kuroda S., Kaibuchi K., Nabeshima Y., and Hama C. Synaptic development is controlled in the periaxial zones of *Drosophila* synapses. **Development** 127 (19), 4157–4168 (2000)
 - 12) Maruya H., Fujimori T., Nabeshima Y., and Endo T. Klotho protein deficiency leads to over-activation of (Mu)-calpain. **J. Biol. Chem.** 277 (38), 35503–

- 35508 (2002)
- 13) Tsujikawa H., Kurotaki Y., Fujimori T., Fukuda K., and Nabeshima Y. *Klotho*, a gene related to a syndrome resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. **Mol. Endocrinology** 17(12), 2393–2403 (2003)
- 14) Kawachi T., Chihama K., Nabeshima Y.I., and Hoshino M. The *in vivo* roles of STEF/Tiam1, Rac1 and JNK in cortical neuronal migration. **EMBO J.** 22 (16), 4190–4201 (2003)
- 15) Imura A., Iwano A., Kita N., Thyoyama O., Fujimori T., and Nabeshima Y. Secreted Klotho protein in sera and CSF: Implication for post-translational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane. **FEBS Letter** 565(1–3), 143–147 (2004)
- 16) Takeshita K., Fujimori T., Kurotaki Y., Horijo H., Tsujikawa H., Yasui K., Lee J.-K., Kamiya K., Kitaichi K., Yamamoto K., Ito M., Kondo T., Iino S., Inden Y., Hirai M., Murohara T., Kodama I., and Nabeshima Y. Sinoatrial Node Dysfunction and Early Unexpected Death of Mice with a Defect of *Klotho* Gene Expression. **Circulation** 109(14), 1776–1782 (2004)
- 17) Tohyama O., Imura A., Iwano A., Freund J.-N., Henrissat B., Fujimori T., and Nabeshima Y. Klotho is a novel β -glucuronidase capable of hydrolyzing steroid β -glucuronides. **J. Biol. Chem.** 279(11), 9777–9784 (2004)
- 18) Hoshino M., Nakamura S., Mori K., Kawachi T., Terao M., Nishimura Y. V., Fukuda A., Matsuo N., Some M., Terashima T., Wright C. V. E., Kawachi Y., Nakao K., and Nabeshima Y. *pff1a*, a bHLH transcriptional gene, defines GABAergic neuronal fates in cerebellum. **Neuron** 47 (2), 201–213 (2005)
- 19) Dezawa M., Ishikawa H., Iokazu Y., Yoshihara T., Hoshino M., Takeda S., Ide C., and Nabeshima Y. Bone marrow stromal cells generate muscle cells and repair muscle degeneration. **Science** 309 (5732), 314–317 (2005)
- 20) Ito S., Fujimori T., Furuya A., Satoh J., Nabeshima Y., and Nabeshima Y. Impaired negative feedback suppression of bile acid synthesis in mice lacking β -Klotho. **J. Clin. Invest.** 115 (8), 2202–2208 (2005)
- 21) Kawachi T., Chihama K., Nabeshima Y., and Hoshino M. Cdk5 phosphorylates and stabilizes p27^{Kip1} contributing to cortical neuronal migration. **Nature Cell Biol.** 8(1), 17–26 (2006)
- 22) Yoshida S., Sukeno M., Nakagawa, T., Ohbo K., Nagamatsu G., Suda T., and Nabeshima Y. The first round of mouse spermatogenesis is a distinctive program that lacks the self-renewing spermatogonia stage. **Development** 133 (8), 1495–1505 (2006)
- 23) Yoshida S., Sukeno M., and Nabeshima Y. A Vasculature-associated niche for undifferentiated spermatogonia in the mouse testis. **Science** 317 (5845), 1722–1726 (2007)
- 24) Kurotaki Y., Hatta K., Nakao K., Nabeshima Y., and Fujimori T. Blastocyst axis is specified independently of early cell lineage but aligns with the ZP shape. **Science** 316 (5825), 719–723 (2007)
- 25) Imura A., Tsuji Y., Murata M., Maeda R., Kubota K., Iwano A., Obuse C., Togashi K., Tomiaga M., Kita N., Tomiyama K., Iijima J., Nabeshima Y., Fujioka M., Asato R., Tanaka S., Kojima K., Ito J., Nozaki K., Hashimoto N., Ito T., Nishio T., Uchiyama T., Fujimori T., and Nabeshima Y. alpha-Klotho as a regulator of Calcium homeostasis. **Science** 316 (5831), 1615–1618 (2007)
- 26) Sato A., Hirai T., Imura A., Kita A., Iwano A., Muro S., Nabeshima Y., Suki B., and Mishina M. Morphological mechanism of the development of pulmonary emphysema in Klotho mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 104 (7), 2361–2365 (2007)
- 27) Nakagawa T., Nabeshima Y., and Yoshida S. Functional identification of the actual and potential stem cell compartments in mouse spermatogenesis. **Dev. Cell** 12 (2), 195–206 (2007)
- 28) Brownstein C.A., Adler F., Nelson-Williams C., Iijima J., Li P., Imura A.,

- Nabeshima Y., Reyes-Mugica M., Carpenter T. O., and Lifton R. P. A translocation causing increased alpha-klotho level results in hypophosphatemic rickets and hyperparathyroidism. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 105(9), 3455–3460 (2008)
- 29) Fujiyama T., Yamada M., Terao M., Terashima T., Hioki H., Inoue U. Y., Inoue T., Masuyama N., Obata K., Yanagawa Y., Kawaguchi Y., Nabeshima Y., and Hoshino M. Inhibitory and excitatory subtypes of cochlear nucleus neurons are defined by distinct bHLH transcription factors, Ptf1a and Atoh1. **Development** 136(12), 2049–2058 (2009)
- 30) Nakagawa T., Sharma M., Nabeshima Y., Braun E.R., and Yoshida S. Functional hierarchy and reversibility within the murine spermatogenic stem cell compartment. **Science** 328 (5974), 62–67 (2010)
- 31) Kawachi T., Sekine K., Shikanai M., Chihama K., Tomita K., Kubo K., Nakajima K., Nabeshima Y., and Hoshino M. Rab GTPases-dependent endocytic pathways regulate neuronal migration and maturation through N-cadherin trafficking. **Neuron** 67(4), 588–602 (2010)
- 32) Kuroda Y., Kiwada M., Wakao S., Nishikawa K., Tanimura Y., Makinoshima H., Goda M., Akashi H., Inutsuka A., Niwa A., Shigemoto T., Nabeshima Y., Nakahata T., Nabeshima Y., Fujiyoshi Y., and Dezawa M. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 107(19), 8639–8643 (2010)
- 33) Tomiyama K., Maeda R., Urakawa I., Yamazaki Y., Tanaka T., Ito S., Nabeshima Y., Tomita T., Odori S., Hosoda K., Nakao K., Imura A., and Nabeshima Y. Relevant use of Klotho in FGF19 subfamily signaling system in vivo. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 107 (4), 1666–1671 (2010)

Review

Nabeshima Y. Discovery of α -Klotho unveiled new insights into calcium and phosphate homeostasis. **Proc. Jpn. Acad. Ser. B** 85 (3), 125–141 (2009)