

様式3

平成30年度愛媛大学プロテオサイエンスセンター共同研究報告書

平成31年3月5日

国立大学法人愛媛大学  
プロテオサイエンスセンター長 殿

研究代表者

所属機関：日本医科大学先端医学研究所  
部局・職名：病態解析学部門分子細胞  
構造学分野 教授  
氏名：福原茂朋

1. 研究課題

ゼブラフィッシュを用いた新規血管新生制御タンパク質 KCTD10 の in vivo イメージング解析

2. 研究組織

氏名	所属機関・部局	職名	分担内容
研究代表者 福原茂朋	日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門 分子細胞構造学 分野	教授	血管内皮細胞特異的に Lifeact 蛍光プローブを発現するゼブラフィッシュをベースとした KCTD10 遺伝子欠損個体の作成とその血管新生のタイムラプス解析
研究分担者 坂上倫久	愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 細胞増殖・腫瘍 制御部門	講師	培養ヒト血管内皮細胞を用いた KCTD10 によるアクチン重合制御の分子メカニズムの解析

3. 研究成果

別紙のとおり

**【研究課題名】**

ゼブラフィッシュを用いた新規血管新生制御タンパク質 KCTD10 の *in vivo* イメージング解析

**【研究者所属・職】**

日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門分子細胞構造学分野 教授

**【氏名】**

福原茂朋

**【研究目的】**

CUL3-KCTD10 軸が新たな血管新生制御剤の標的となる可能性を明らかにする

**【研究内容】**

- ・ 樹立した KCTD10 ノックアウトゼブラフィッシュを用いて、受精 24 時間後に起こる体幹部血管新生の評価、およびアクチン骨格制御についてライブイメージング解析を実施した。実験は 7 回実施し、64 個体の KCTD10 ノックアウトゼブラフィッシュについて、野生型およびヘテロ個体と比較することで表現型を解析した。
- ・ ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いて、アクチン重合—脱重合のバランス制御における KCTD10 の機能解析を実施した。

**【研究成果】**

- ・ 重合アクチン (F-actin) を可視化できるゼブラフィッシュに対して KCTD10 をノックアウトしたところ、いくつかの個体において明らかな血管形成異常が認められた。しかし、本表現型は全ての KCTD10 ノックアウト個体で認められず、KCTD10 欠損型の多くは野生型と同様の正常血管新生を認めた。KCTD10 ノックアウトゼブラフィッシュ発生初期における血管新生異常として表現型は、その出現頻度が低いことから、KCTD10 遺伝子欠損による直接的なものではなく、心臓形成不全等に伴う二次的な表現型である可能性が高いことが分かった。
- ・ KCTD10 発現抑制 HUVEC を用いて、コラーゲンゲル内三次元培養を実施したところ、明らかなアクチン過重合が認められた。更に、本表現型を担う KCTD10 結合因子として低分子量 GTP 結合タンパク質を同定した。

**【成果発表】**

なし

**【今後の課題】**

今回の *in vivo* イメージング解析から、我々は、ゼブラフィッシュ発生初期における血管新生制御において KCTD10 の分子機能が必須ではないことを明らかにした。この結果は、発生初期のような生理的血管新生過程においては、KCTD10 と類似した機能を持つ

タンパク質によって血管新生が正常化されているものと示唆される。一方、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）によって誘導される腫瘍血管新生を模倣した *in vitro* 三次元培養の実験においては、血管新生阻害とアクチン重合異常の表現型が認められた。今後は、腫瘍形成過程に起こる異所性の病態血管新生を視野に入れ、CUL3-KCTD10-基質の機能解析を展開する予定としている。