

ン系をプラスミドにより確立できるようになれば、ウイルス因子を標的とした薬剤、あるいはウイルスタンパク質と宿主因子の相互作用を標的とする薬剤などのスクリーニングが低コストで簡便に行える。さらに異なる種のcDNAライブラリーを用いることで、種特異的な宿主因子の検索も可能となる。ウイルスの増殖メカニズムを完全に理解するため、酵母の利点を最大限に引き出し、さらに各種スクリーニング方法を組み合わせることで、宿主因子の同定と機能解析の飛躍的な進展が期待される。

- 1) Nagata, K., Kawaguchi, A., & Naito, T. (2008) *Rev. Med. Virol.*, 18, 247-260.
- 2) Obayashi, E., Yoshida, H., Kawai, F., Shibayama, N., Kawaguchi, A., Nagata, K., Tame, J.R., & Park, S.Y. (2008) *Nature*, 454, 1127-1131.
- 3) Kawaguchi, A. & Nagata, K. (2007) *EMBO J.*, 26, 4566-4575.
- 4) Rochovansky, O.M. & Hirst, G.K. (1976) *Virology*, 73, 339-349.
- 5) Enami, M., Luytjes, W., Krystal, M., & Palese, P. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 3802-3805.
- 6) Luytjes, W., Krystal, M., Enami, M., Pavin, J.D., & Palese, P. (1989) *Cell*, 59, 1107-1113.
- 7) Yamanaka, K., Ogasawara, N., Yoshikawa, H., Ishihama, A., & Nagata, K. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 5369-5373.
- 8) Neumann, G., Watanabe, T., Ito, H., Watanabe, S., Goto, H., Gao, P., Hughes, M., Perez, D.R., Donis, R., Hoffmann, E., Hobom, G., & Kawaoka, Y. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 9345-9350.
- 9) Neumann, G., Whitt, M.A., & Kawaoka, Y. (2002) *J. Gen. Virol.*, 83, 2635-2662.
- 10) Alves-Rodrigues, I., Galao, R.P., Meyerhans, A., & Diez, J. (2006) *Virus. Res.*, 120, 49-56.
- 11) Goffeau, A., Barrell, B.G., Bussey, H., Davis, R.W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J.D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E.J., Mewes, H.W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H., & Oliver, S.G. (1996) *Science*, 274, 546, 563-547.
- 12) Makarow, M. (1985) *EMBO J.*, 4, 1855-1860.
- 13) Naito, T., Kiyasu, Y., Sugiyama, K., Kimura, A., Nakano, R., Matsukage, A., & Nagata, K. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 18235-18240.

- 14) Momose, F., Basler, C.F., O'Neill, R.E., Iwamatsu, A., Palese, P., & Nagata, K. (2001) *J. Virol.*, 75, 1899-1908.
- 15) Fong, Y.W. & Zhou, Q. (2001) *Nature*, 414, 929-933.

内藤 忠相, 永田 恭介  
(筑波大学大学院人間総合科学研究科  
生命システム医学専攻感染生物学)

Influenza virus replicon and host factors for its replication and transcription  
Tadasuke Naito and Kyosuke Nagata (Department of Infection Biology, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba 305-8575, Japan)

## 肥満と糖代謝におけるケモカイン CXCL14 の新たな役割

### 1. ケモカイン CXCL14 の基本的性質

CXCL14 は、ヒトのがん組織およびがん由来細胞株で発現低下するケモカイン様分子として1999年にクローニングされた<sup>1)</sup>。複数のグループが独立してこの分子を同定しBRAK, BMAC, Mip-2γとそれぞれ命名したが<sup>1-3)</sup>、ケモカイン呼称の統一ルールに従って、本稿ではCXCL14と呼ぶ。CXCL14 mRNAは99アミノ酸をコードし、N端にあるシグナル配列の切断によって、77アミノ酸から成るポリペプチドを産生する(図1)。成熟型CXCL14の推定分子量は9.4キログルトンで、等電点10.3の弱アルカリ性タンパク質である。

ケモカインはN端の二つのシステイン残基の間にアミノ酸がひとつ入っているか否かによって、CC型あるいはCXC型に大きくクラス分けされ、CXC型ケモカインはさらにN端のELRモチーフの有無によって、ELR<sup>+</sup>型とELR<sup>-</sup>型とに分類される。CXCL14はCXCケモカインの

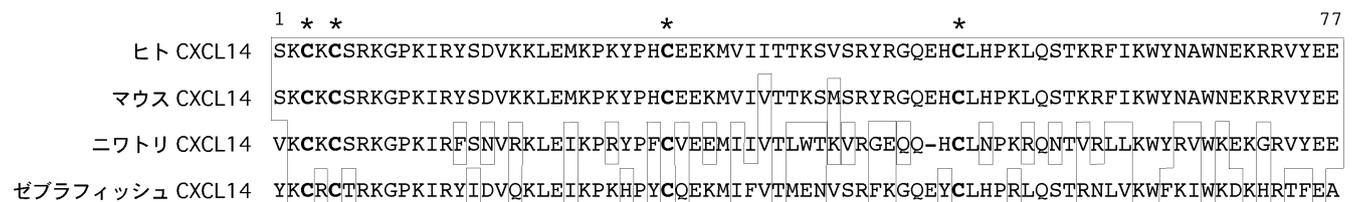


図1 CXCL14のアミノ酸配列の種間比較  
プロセッシング後の成熟CXCL14ポリペプチド(77アミノ酸残基)について、4種類の種で相同性を比較した。共通しているアミノ酸残基をボックスにて囲んだ。なお、保存されている4箇所のシステイン残基を太字で表し、それらの位置をアスタリスクで示した。

ELR<sup>+</sup>型である。一般的に、ELR<sup>+</sup>型ケモカイン (CXCL1, CXCL5, CXCL8 など) が血管新生を促進するのに対して、ELR<sup>-</sup>型 (CXCL4, CXCL9, CXCL10 など) は抑制的であることが多い。CXCL14 もこのルールに合致して血管内皮細胞成長因子や線維芽細胞成長因子による血管新生誘導に対して抑制的に作用する<sup>1)</sup>。

## 2. CXCL14 遺伝子の構造と発現場所

CXCL14 遺伝子はヒトでは染色体 5q31.1 領域に、マウスでは染色体 13 番にそれぞれ存在し、どちらも 4 個のエキソンから構成される。成熟 mRNA のサイズは、ヒトで 1,685 塩基、マウスで 1,823 塩基である。ヒトの CXCL14 mRNA は、腎臓、小腸、肝臓、脳、そして骨格筋での発現レベルが高い<sup>1,2,5)</sup>。組織内部で観ると、CXCL14 mRNA は基底膜上部の上皮細胞層に強く発現している<sup>5,6)</sup>。それ以外には、CXCL14 はリポ多糖で刺激した単球や B 細胞からも産生されるが、T 細胞からはつくられない<sup>5)</sup>。

マウス臓器における CXCL14 mRNA の発現分布は、脳、腎臓、骨格筋についてはヒトと共通しているが、他の臓器では異なっている。CXCL14 はヒトの肝臓で産生されるが、マウスの肝臓ではほとんど検出されない<sup>2,7)</sup>。これとは逆に、マウスの肺や卵巣が CXCL14 発現レベルの高い臓器であるのに対して、ヒトの肺や卵巣における CXCL14 発現量は比較的少ない。なお、ヒトでは解析例がないが、マウスでは白色脂肪組織や褐色脂肪組織からも CXCL14 が産生されており、肥満によって発現レベルが上昇する<sup>7)</sup>。この現象は、後述するように肥満性糖尿病の発症と深く関連している。

## 3. CXCL14 の生物活性

各種の血球細胞株や培養細胞を用いて CXCL14 のケモタキシス誘導活性が検討された結果、ヒトの単球系白血球細胞株 THP-1<sup>2)</sup>、プロスタグランジンで活性化された組織マクロファージ<sup>8)</sup>、樹状細胞前駆細胞<sup>4,6,9)</sup>、そしてナチュラルキラー細胞<sup>10)</sup>がそれぞれ CXCL14 に応答して誘引されることが判明した。特に、皮下に存在する樹状細胞前駆細胞は上皮細胞層から恒常的に産生されている CXCL14 に誘引され、そこでランゲルハンス細胞へと分化する<sup>6)</sup>。CXCL14 は骨髄由来の樹状細胞前駆細胞に作用して、樹状細胞の分化 (マーカーの発現高進や抗原提示機能の強化) を促進する<sup>9)</sup>。なお、最初の報告では B 細胞も CXCL14 応答性と記されたが<sup>2)</sup>、他の研究者はこれを再現できていない。多くの CXC ケモカインに応答する T 細胞が CXCL14

に対する走化性を示さないことから、CXCL14 は既知の CXC 型ケモカイン受容体を使っていないであろうと推察されている。実際、CXCL14 受容体はいまだに同定されていない。

上述した CXCL14 の生物活性は主にヒト細胞を用いて検出されたが、マウスでは CXCL14 走化性を示す細胞ソースの報告例があまりない。我々はマウス末梢血の Mac1 陽性細胞の一部が CXCL14 走化性を持つことを示し、さらにマウス筋芽細胞株 C2C12 が CXCL14 に応答することを見出した<sup>7)</sup> (後述)。しかし、CXCL14 欠損マウスを用いたスイスの研究グループの検討では、マクロファージや樹状細胞の総数や機能に顕著な差は見出されなかった<sup>11)</sup>。これらの細胞の組織内移動に関しては、複数のケモカインが機能的に重複しているか、あるいはマウスにおいては限られた細胞集団だけが CXCL14 応答性を保持している可能性が考えられる。

## 4. CXCL14 とがんとの関係

CXCL14 はもともとがん組織で mRNA の発現が消失することにより発見された分子であるため、腫瘍悪性化との関連性が注目されてきた。がん細胞自身は CXCL14 の産生を抑制する仕組みを持っているが、それに伴って樹状細胞前駆細胞を誘引する活性も消失することが示されている。さらに、CXCL14 をがん細胞株に強制発現させた実験からも、CXCL14 が腫瘍の退縮に重要な役割を担っていることが示唆されている。

## 5. CXCL14 欠損マウスの表現型

我々は筋萎縮症モデルマウスの骨格筋で発現高進する遺伝子のひとつとして CXCL14 をクローニングし、その機能を解明するために CXCL14 欠損マウスを作出した。このマウスの筋再生能は見かけ上正常であったが、CXCL14 欠損マウスは同腹対照マウスと比べて体重が 10~15% 軽く、内臓脂肪の蓄積量が少なかった<sup>7)</sup>。この低体重の主な原因は摂食量の低下にあった。そこで高脂肪食を与えて飼育してみたところ、CXCL14 欠損マウスにおいても内臓白色脂肪の蓄積が起り、脂肪細胞の肥大化も観察された。しかし、肥満化させた CXCL14 欠損マウスの白色脂肪中のマクロファージ数は、対照マウスと比べて有意に減少していた<sup>7)</sup>。肥満マウスの白色脂肪組織や骨格筋では、CXCL14 の発現レベルが通常のマウスと比較して顕著に上昇する<sup>7)</sup>。肥満に伴って内臓白色脂肪に浸潤したマクロファージは慢性の炎症反応を引き起こし、これが血糖値を

調節するインスリンの働きを鈍らせる（インスリン抵抗性の惹起）ことが知られている。このマクロファージ悪玉説に合致して、肥満化させた *CXCL14* 欠損マウスは、同一条件下で肥満化させた対照マウスと比較してインスリン感受性が高かった<sup>7)</sup>。

肥満マウスでは血中のアディポネクチン濃度が低下し、レチノール結合タンパク質 RBP4 の血中含量が増加する。これらもインスリン抵抗性を特徴とする 2 型糖尿病の発症原因となることが知られている。対照肥満マウスと比較して *CXCL14* 欠損肥満マウスでは、アディポネクチンの血中濃度が高いまま保持され、RBP4 の血中濃度も低レベルであった<sup>7)</sup>。さらに、肥満マウスで起こる脂肪肝や血中コレステロール濃度の上昇も、*CXCL14* 欠損肥満マウスでは軽度であった<sup>7)</sup>。以上の実験結果は、*CXCL14* が肥満性 2 型糖尿病の発症に関与していることを示唆している。ただし、肥満性インスリン抵抗性が緩和されるという *CXCL14* 欠損マウスの表現型は、雌に特徴的で雄ではその傾向はあるものの統計的有意差は出ていない。このジェンダー特異的な表現型が現れる原因はまだわかっていない。

## 6. *CXCL14* とインスリンとのシグナルクロストーク

*CXCL14* 欠損肥満マウスが示したインスリン抵抗性の緩和は、内臓白色脂肪のマクロファージが少ないことに起因すると推察されたが、実はもっと広い範囲で *CXCL14* は肥満性の代謝異常に関与しているようである。*CXCL14* 欠損肥満マウスと対照肥満マウスとを比較したとき、インスリンに応答して血糖を吸収する肝臓、骨格筋、白色脂肪

組織の中で、インスリン投与後の Akt キナーゼのリン酸化の程度に最も差があったのは骨格筋であった<sup>7)</sup>。そこで、筋芽細胞株 C2C12 を筋細胞へと分化誘導してインスリン感受性を調べてみたところ、*CXCL14* の前処理によってインスリン刺激による Akt のリン酸化とグルコースアナログ (2-deoxyglucose) の取り込みが有意に阻害された<sup>7)</sup>。したがって、肥満によって増加した *CXCL14* は、脂肪へのマクロファージ動員を促進すると同時に、骨格筋での糖吸収を抑制することによって、個体のインスリン抵抗性を誘導していると推察される (図 2)。

## 7. *CXCL14* は個体維持に必要なケモカイン

哺乳類は、同様な機能を持つ多数のケモカインを産生することによって、創傷治癒や免疫応答のために二重三重の備えをしている。したがって、たった 1 種類のケモカイン遺伝子だけの欠損によってマウスに表現型が現れるケースはまれである。造血幹細胞の骨髄ホーミングを誘引する *CXCL12* がその代表例であるが、*CXC* ファミリーとしては *CXCL14* が 2 番目のケースとなった。*CXCL12* と同様に、*CXCL14* のアミノ酸配列は種間でよく保存されている。ヒトとマウスとでは、77 アミノ酸のうちで 2 アミノ酸だけしか異なっておらず、また、ニワトリやゼブラフィッシュの *CXCL14* もヒト *CXCL14* との間で 58% 以上の相同性を有する (図 1)。

*CXCL12* と *CXCL14* は両者ともに、魚類の胚発生初期に発現し、脳での発現が強いのが特徴である<sup>12)</sup>。したがって、これらのケモカインは免疫応答だけでなく個体の発生

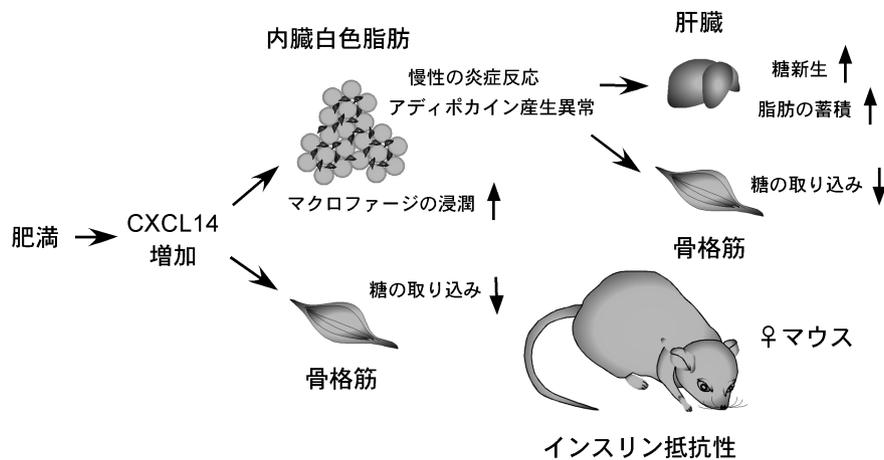


図 2 肥満性インスリン抵抗性発症における *CXCL14* の役割  
高脂肪食飼育した *CXCL14* 欠損マウスの表現型に基づいて、推測される *CXCL14* の生理的機能を模式的に表した。

や中枢神経活動にも重要な働きをしている可能性が高い。実際、遺伝的背景を C57BL/6 にそろえた CXCL14 欠損マウスの生誕率は雄雌ともにメンデルの法則の 50% 以下であり、離乳後の CXCL14 欠損雌マウスの成長率は正常マウスと比較して有意に低かった (未発表データ)。

### 8. CXCL14 研究の課題と展望

これまで説明してきたように、CXCL14 は炎症反応や血管新生に関わる多種類のケモカインと異なり、個体のエネルギー代謝や摂食行動を調節するという重要な働きを担っている。また、一遺伝子欠損によりマウスに表現型の違いが現れたことから、機能的に重複するケモカインは存在しないと予想される。しかし、今日までに同定された CXC 型のケモカイン 16 種類の中で、CXCL14 受容体だけが唯一クローニングされていないため、生理機能を理解する上で必須なリガンド-受容体の分子薬理的基盤がまだ全く確立されていない。CXCL14 ホモ欠損マウスの表現型が雌に顕著であるという性特異性についても、受容体の活性化機構に原因があると予想されるが、真相はブラックボックスの中にある。

実は、CXCL14 の研究が他の CXC 型ケモカイン (例えば CXCL12) と比べて著しく遅れているのには、上記以外にもいくつかの基本的理由がある。まず、細胞や個体内でつくられている内在性 CXCL14 タンパク質を定量するのに有効な高感度の抗体がまだ完成していない。市販の抗 CXCL14 抗体は組換え体タンパク質をウェスタンブロットや ELISA にて検出するには有効だが、なぜかナチュラルソースの CXCL14 をうまく検出できない。次に、CXCL14 の活性を正確に測定する優れたバイオアッセイ系がまだ確立されていない。単球系細胞株やマウスのマクロファージなどを使ったケモタキシスアッセイは、100 nM (1 µg/ml) という非常に高濃度の CXCL14 を必要とし<sup>7,8)</sup>、細胞の移動率も他のケモカインと比較して低い。これらの技術的困難は、CXCL14 研究者が共通して経験していることであり、個体内における CXCL14 の存在状態がこのことと密接に関連しているように思われる。今後は、CXCL14 欠損マウスを用いてこのケモカインの生理的機能をさらに探求していくのに加えて、CXCL14 活性の生化学的基礎をき

ちんと確立していくことが必須であると思われる。

- 1) Hromas, R., Broxmeyer, H.E., Kim, C., Nakshatri, H., Christopherson, K., 2nd, Azam, M., & Hou, Y.H. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 255, 703-706.
- 2) Sleeman, M.A., Fraser, J.K., Murison, J.G., Kelly, S.L., Prestidge, R.L., Palmer, D.J., Watson, J.D., & Kumble, K.D. (2000) *Int. Immunol.*, 12, 677-689.
- 3) Cao, X., Zhang, W., Wan, T., He, L., Chen, T., Yuan, Z., Ma, S., Yu, Y., & Chen, G. (2000) *J. Immunol.*, 165, 2588-2595.
- 4) Shellenberger, T.D., Wang, M., Gujrati, M., Jayakumar, A., Strieter, R.M., Burdick, M.D., Ioannides, C.G., Efferson, C.L., El-Naggar, A.K., Roberts, D., Clayman, G.L., & Frederick, M. J. (2004) *Cancer Res.*, 64, 8262-8270.
- 5) Frederick, M.J., Henderson, Y., Xu, X., Deavers, M.T., Sahin, A.A., Wu, H., Lewis, D.E., El-Naggar, A.K., & Clayman, G.L. (2000) *Am. J. Pathol.*, 156, 1937-1950.
- 6) Schaerli, P., Willimann, K., Ebert, L.M., Walz, A., & Moser, B. (2005) *Immunity*, 23, 331-342.
- 7) Nara, N., Nakayama, Y., Okamoto, S., Tamura, H., Kiyono, M., Muraoka, M., Tanaka, K., Taya, C., Shitara, H., Ishii, R., Yonekawa, H., Minokoshi, Y., & Hara, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, 282, 30794-30803.
- 8) Kurth, I., Willimann, K., Schaerli, P., Hunziker, T., Clark-Lewis, I., & Moser, B. (2001) *J. Exp. Med.*, 194, 855-861.
- 9) Shurin, G.V., Ferris, R., Tourkova, I.L., Perez, L., Lokshin, A., Balkir, L., Collins, B., Chatta, G.S., & Shurin, M.R. (2005) *J. Immunol.*, 174, 5490-5498.
- 10) Starnes, T., Rasila, K.K., Robertson, M.J., Brahmi, Z., Dahl, R., Christopherson, K., & Hromas, R. (2006) *Exp. Hematol.*, 34, 1101-1105.
- 11) Meuter, S., Schaerli, P., Roos, R.S., Brandau, O., Bosl, M.R., von Andrian, U.H., & Moser, B. (2007) *Mol. Cell. Biol.*, 27, 983-992.
- 12) Huising, M.O., van der Meulen, T., Flik, G., & Verburg-van Kemenade, B.M. (2004) *Eur. J. Biochem.*, 271, 4094-4106.

原 孝彦

(財団法人東京都医学研究機構・  
東京都臨床医学総合研究所・幹細胞プロジェクト)

Novel roles of CXCL14 in obesity and glucose metabolism  
Takahiko Hara (Stem cell project group, The Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo Metropolitan Organization for Medical Research, 3-18-22 Honkomagome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8613, Japan)