

様 式 C - 7 - 1

平成 26 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機 関 番 号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

基盤研究(S)

4. 研究 期 間

平成 24 年度～平成 28 年度

5. 課 題 番 号

2	4	2	2	8	0	0	2
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名

小胞体ストレス応答の分子機構とその破綻による疾患機序の解明

7. 研究代表者

研究 者 番 号	研究 代 表 者 名	所 属 部 局 名	職 名
5 0 1 4 2 0 0 5	コウノ ケンジ 河野 憲二	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究 者 番 号	研究 分 担 者 名	所属研究機関名・部局名	職 名

9. 研究実績の概要

- 1 小胞体膜上での特殊スプライシング機構の解析： Flag-XBP1uをHEK293T細胞に発現し、Flag抗体により免疫沈降をするとSRP54, SRP72, Sec61a, Sec61bが共沈降してくることが分かり、両者が相互作用していることが明らかとなった。また翻訳停止を解析するためのレポーターを作製した。
- 2 寄生虫排除に關与するIRE1βの生理機能解析： 寄生虫感染と同様の効果をもつIL33を腹腔内投与すると、野生型マウスでは小腸杯細胞の過形成、ムチン産生の増大が認められるが、IRE1β KOマウスではそれらが強く抑制された。さらにムチン産生を電気泳動で調べた所、IRE1β KOマウスでは、ムチン前駆体が蓄積していることが明らかとなった。
- 3 糖尿病発症におけるIRE1αの生理機能解析： 遺伝子型IRE1α (flx/-)とIRE1α (-/-)のマウスについて、血糖値、血中インスリン濃度、グルコース負荷テストを経時的に行なった結果、生後12週目から血糖値の上昇、血中インスリン濃度の低下、耐糖能の低下などが観察され糖尿病を発症することが判明した。また、IRE1α (flx/flx)のβ細胞株を樹立し、Cre を発現するアデノウィルスの感染によりIRE1α欠損を起こし、その時のインスリン産生、遺伝子発現を調べた結果、インスリンの成熟過程が影響を受けること、PDI family の発現に大きな影響が出ることが分かった。

10. キーワード

(1) 小胞体	(2) ストレス応答	(3) 寄生虫感染	(4) 糖尿病
(5) インスリン	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの進捗状況

(区分) (2) おおむね順調に進展している。

(理由)

寄生虫排除にIRE1 β が小腸で重要な役割をになっていることが分かって来た。また膵島 β 細胞でのインスリン産生においてはIRE1 α が重要であることが明らかとなった。これらの結果はマウスと組織、あるいは培養細胞両者を用いて解析しており、今後分子レベルでの詳細な解析が可能となった。順調に進展している。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

- 1 小胞体膜上での特殊スプライシング機構の解析： XBP1uのHR2領域が相互作用するタンパク質の候補として、シグナル認識粒子(SRP)とトランスロコンを見出したので、両分子がどのように関わっているかをin vitroのタンパク質合成系と培養細胞レベルの両者を用いての解析研究を継続する。
- 2 寄生虫排除に關与するIRE1 β の生理機能解析： 野生型の小腸杯細胞では、IL33投与時には、細胞数が40-50%程度増え、かつPAS染色の領域面積が増大する。一方、IRE1 β KOマウスでは、細胞数の増加を認められず、細胞あたりのムチン量の増大も顕著に抑えられる。細胞数の増加がIRE1 β KOマウスで抑えられているかどうかを明らかにするために、杯細胞のムチン産生に必須なAGR2の染色も行い、杯細胞の同定をより正確に調べる。またアポトーシスが起きているかどうかの可能性も検討する。
- 3 糖尿病発症におけるIRE1 α の生理機能解析： 膵 β 細胞株MINS-IRE1 α (fl/fl)とMINS-IRE1 α (Δ R/ Δ R) (IRE1 α のRNase欠損型)を作製し、両者のプロインスリン及びインスリン発現量を転写レベル、蛋白質レベルで調べ分泌量が激減している理由を明らかにする。またインスリン合成量に差がないかどうかをインスリンのパルスチェイスラベルを行って明らかにする。

13. 研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(5)件/うち査読付論文 計(4)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(3)件

著 者 名		論 文 標 題				
Fujimuro, T., Matsui, T., Nitanda, Y., Matta, T., Sakumura, Y., Saito, M., Kohno, K., Nakahata, Y., Bessho, Y.		Hes7 3'UTR is required for somite segmentation function.				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Sci. Rep.		有	4	2014	6462 (1-9)	-
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1038/srep06462						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

著 者 名		論 文 標 題				
Shinomura, M., Kishi, K., Tomita, A., Kawasumi, M., Kanezashi, H., Kuroda, Y., Tsunekawa, N., Ozawa, A., Aiyama, Y., Yoneda, A., Suzuki, H., Saito, M., Picard, J.Y., Kohno, K., Kurohmaru, M., Kanai-Azuma, M., and Kanai, Y.		A novel Amh-Treck transgenic mouse line allows toxin-dependent loss of supporting cells in gonads.				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Reproduction		有	148	2014	H1-9	-
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1530/REP-14-0171						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

著 者 名		論 文 標 題				
Miyagawa, K.I., Ishiwata-Kimata, Y., Kohno, K., and Kimata, Y.		Ethanol stress impairs protein folding in the endoplasmic reticulum and activates Ire1 in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Biosci. Biotechnol. Biochem.		有	78	2014	1389-1391	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1080/09168451.2014.921561						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著 者 名		論 文 標 題				
Kim, S. K., Nasu, A., Komori, J., Shimizu, T., Matsumoto, Y., Minaki, Y., Kohno, K., Shimizu, K., Uemoto, S., Chiba, T., and Marusawa, H.		A model of liver carcinogenesis originating from hepatic progenitor cells with accumulation of genetic alterations				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
Int. J. Cancer		有	134	2 0 1 4	1067-1076	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/ijc.28445						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

著 者 名		論 文 標 題				
都留秋雄、河野憲二		小胞体ストレスと炎症性腸疾患				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
実験医学		無	32	2 0 1 4	2221-2225	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
なし						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

(学会発表) 計(29)件/うち招待講演 計(5)件/うち国際学会 計(3)件

発 表 者 名		発 表 標 題	
Rubwad Mathuranyanon, Kenji Kohno and Yukio Kimata		Fine regulation of yeast ER stress sensor Ire1 by its N-terminal intrinsically disordered region	
学 会 等 名		発表年月日	発表場所
Cold Spring Harbor Meeting "Molecular Chaperones and Stress Response" (国際学会)		2014年04月29日 ~ 2014年05月03日	Cold Spring Harbor, New York (USA)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Kenji Kohno	The importance of ribosome stalling in the unfolded protein response	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会(招待講演)	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Yuki Kimata-Ishiwata, Kenji Kohno, Yukio Kimata	New aspects of regulation and function of the ER stress sensor Ire1 in yeast cells	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会(招待講演)	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
苅田 聡、柳谷 耕太、横田 有希子、江崎 悠太、河野 憲二	XBP1u mRNAのSRP経路を利用した小胞体局在化	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
土屋 雄一、斉藤 美知子、岩脇 隆夫、宮崎 純一、河野 憲二	インスリン産生細胞における小胞体ストレスセンサーIRE1aの生理的役割	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
門倉 広、斉藤 美知子、都留 秋雄、稲葉 謙次、河野 憲二	ERdj5(JPDI)基質候補タンパク質のマウス個体組織からの網羅的同定	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2015年06月11日 ~ 2015年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
高橋 千恵、大西 由希子、木田 祐一郎、柳谷 耕太、河野 憲二、坂口 雅郎	リボソームは伸長直後のポリペプチド鎖の配列をトンネル内で感知しトランスロコンの機能を制御する	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Rubwad Mathuranyanon, Kenji Kohno and Yukio Kimata	Tight repression of yeast endoplasmic-reticulum stress sensor Ire1 by its N-terminal intrinsically disordered subdomain	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
曾川 愛守榮、大古殿 美加、柳谷 耕太、河野 憲二	哺乳動物細胞における XBP1u と正電荷アミノ酸クラスターの翻訳停止機構の比較	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
佐藤 仁美、井上 道雄、保田 裕貴、山本 洋平、門倉 広、稲葉 謙次、河野 憲二	小胞体膜タンパク質DNAJB12の活性制御におけるジスルフィド結合の影響	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2015年06月11日 ~ 2015年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
池端 悠介、今川 佑介、柳谷 耕太、田丸 良子、金谷 重彦、岩脇 隆夫、河野 憲二	小胞体ストレスセンサーIRE1 α による細胞質スプライシングに必須なmRNAの構造及び配列の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
宮川 賢一、河野 憲二、木俣 行雄	出芽酵母でのエタノール誘発性小胞体ストレスと防衛応答	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日 ~ 2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県・奈良市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
河野 憲二	小胞体ストレス応答における翻訳アレストの重要性	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第9回小胞体ストレス研究会	2014年07月04日 ~ 2014年07月05日	徳島大学 (徳島県・徳島市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
土屋 雄一、斉藤 美知子、岩脇 隆夫、宮崎 純一、河野 憲二	インスリン産生細胞における小胞体ストレスセンサーIRE1 α の生理的役割	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第9回小胞体ストレス研究会	2014年07月04日 ~ 2014年07月05日	徳島大学 (徳島県・徳島市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
木俣 有紀、小口 能里枝、木俣 行雄	ミトコンドリアの機能不全はUnfolded protein responseにどのように関わるか？	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
酵母遺伝学フォーラム 第47回研究報告会	2014年09月01日 ~ 2014年09月03日	東京大学農学部 (東京都・文京区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
曾川 愛守榮、大古殿 美加、柳谷 耕太、河野 憲二	異なる翻訳停止における新生ポリペプチド鎖の比較	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
2014年度日本農芸化学会関西支部大会(第486回講演会)	2014年09月20日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県・生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
大古殿 美加、曾川 愛守榮、河野 憲二	XBP1uにおける翻訳停止の分子機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
2014年度日本農芸化学会関西支部大会(第486回講演会)	2014年09月20日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県・生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
荻田 聡、横田 有希子、江崎 悠太、柳谷 耕太、河野 恵二	SRP経路によるXBP1u mRNAの小胞体局在化機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
2014年度日本農芸化学会関西支部大会(第486回講演会)	2014年09月20日	奈良先端科学技術大学院大学(奈良県・生駒市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
河野 恵二	Unfolded Protein Response (UPR) における翻訳ボージングの重要性	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第87回日本生化学会大会(2014)(招待講演)	2014年10月15日 ~ 2014年10月17日	国立京都国際会館 (京都府・京都市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Satoshi Kanda, Kota Yanagitani, Yukiko Yokota, Yuta Esaki1, Kenji Kohno	Novel role of SRP pathway on XBP1u localization and ER homeostasis	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
EMBO conference (The endoplasmic reticulum)(国際学会)	2014年10月26日 ~ 2014年10月31日	Girona (Spain)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Satoshi Kanda, Kota Yanagitani, Yukiko Yokota, Yuta Esaki1, Kenji Kohno	Novel role of SRP pathway on XBP1u localization and ER homeostasis	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第37回分子生物学会	2014年11月25日 ~ 2014年11月27日	パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Mirai Kono, Yusuke Imagawa, Masaaki Koike, Kota Yanagitani, Kenji Kohno	Analysis of translational dynamics of XBP1 mRNA	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第37回分子生物学会	2014年11月25日 ~ 2014年11月27日	パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
斉藤 美知子, 土屋 雄一, 岩脇 隆夫, 森 和俊, 宮崎 純一, 河野 憲二	小胞体ストレス応答不全による糖尿病発症機構の解明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第37回分子生物学会	2014年11月25日 ~ 2014年11月27日	パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
斉藤 美知子, 土屋 雄一, 岩脇 隆夫, 森 和俊, 宮崎 純一, 河野 憲二	小胞体ストレス応答不全による糖尿病発症機構の解明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第37回分子生物学会ワークショップ「オルガネラストレスが紡ぐ生活習慣病」	2014年11月25日 ~ 2014年11月27日	パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Kenji Kohno	Efficient targeting of translation-paused XBP1u to the ER in the unfolded protein response.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
九州大学国際シンポジウム From Genes to Human Diseases (招待講演) (国際学会)	2015年03月16日 ~ 2015年03月17日	九州大学 (福岡県・福岡市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
河野 未来	Analysis of translational dynamics of XBP1 mRNA	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
「新生鎖の生物学」第一回若手ワークショップ	2015年03月08日 ~ 2015年03月10日	八王子セミナーハウス(東京都・八王子市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
曾川 愛守栄	XBP1u 新生鎖の翻訳停止後にたどる運命	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
「新生鎖の生物学」総括班主催 第一回若手ワークショップ	2015年03月08日 ~ 2015年03月10日	八王子セミナーハウス(東京都・八王子市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
大古殿 美加	XBP1u タンパク質の翻訳停止機構の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
「新生鎖の生物学」総括班主催 第一回若手ワークショップ	2015年03月08日 ~ 2015年03月10日	八王子セミナーハウス(東京都・八王子市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
土屋 雄一、斉藤 美知子、河野 憲二	小胞体ストレス応答機能障害による糖尿病の発症機序	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本薬学会第135回年会 シンポジウム「小胞体機能異常による疾患発症機構と創薬への展開」(招待講演)	2015年03月28日	兵庫医療大学 (兵庫県・神戸市)

(図書) 計(1)件

著 者 名	出 版 社		
Yanagitani, K. Kohno, K.	Springer		
書 名	発行年	総ページ数	
Nascent chain-mediated localization of mRNA on the endoplasmic reticulum as an important step of unfolded protein response. in "Regulatory Nascent Polypeptides"	2 0 1 4	315 (291-310)	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究：国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
United Kingdom	University of Cambridge	-	-	-
United States of America	Harvard Medical School	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-				

17. 備考

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科動物細胞工学
<http://bsw3.naist.jp/courses/courses207.html>
 Laboratory of Molecular Cell and Genetics
<http://bsw3.naist.jp/eng/courses/courses207.html>
 奈良先端科学技術大学院大学動物細胞工学研究室(河野研)
<http://bsw3.naist.jp/kouno/>