

様 式 C - 7 - 1

平成 27 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： 翻訳レベルで一過的ポーズリングを起こす野生型Flag-XBP1u、さらに強いポーズリングを起こすFlag-XBP1u[S255A]、ポーズリングを起こさないFlag-XBP1u[w256A]をHEK293T細胞に発現し、SRPやトランスロコンとの結合を調べた所、SRP経路に入るためには、ポーズリングが必要であることが明らかとなった。
- 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。IRE1β KOマウス由来の杯細胞では、小胞体シャペロンであるBiPの発現が強く誘導され、ムチン前駆体の蓄積により小胞体ストレスが誘起されていると考えられた。電子顕微鏡観察からも小胞体の肥大化が観察されこの結果を支持した。
- 3 糖尿病発症におけるIRE1αの生理機能解析： IRE1α (flx/flx)とIRE1α欠損を起こしたIRE1α (ΔR/ΔR)のβ細胞株を樹立し、その遺伝子発現、蛋白質の発現を調べた結果、インスリンの立体構造形成に関わると考えられる5種のPDI family遺伝子を見出した。

10. キーワード

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

小胞体ストレスセンサー IRE1 α の膵島 β 細胞における役割に関しては、マウス個体から β 培養細胞を樹立するところで非常に苦労し予想外に時間がかかってしまったが、全体的には計画しているすべてのテーマは順調に進んでいる。

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をN末に配置すると通常のシグナル配列として機能するかどうか、またHR2とボージング配列までの長さで膜への局在化効率との関係を調べ、小胞体内への輸送がXBP1u 蛋白質の場合どのように制御されているのかを明らかにする。
- 2 寄生虫排除に関与する IRE1 β の生理機能解析： IL33投与の時に、上皮細胞の細胞分裂頻度をBrdUの取り込みにより、またアポトーシスの頻度をカスパーゼ3の切断をみるにより調べる。これにより野生型とIRE1 β KOマウス由来の小腸上皮で杯細胞数がIRE1 β KOで抑えられている原因を探る。またIRE1 α KOマウスにIL33投与をした場合に、杯細胞の過形成やムチン産生に影響がどうかを調べる。
- 3 糖尿病発症における IRE1 α の生理機能解析： IRE1 α 欠損を起こしたIRE1 α ($\Delta R/\Delta R$)の β 細胞株に、IRE1 α あるいはXBP1sを発現させると、インスリン分泌が正常に戻るかどうかのrescue実験を行う。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(4)件/うち査読付論文 計(3)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(2)件

著 者 名		論 文 標 題				
Tsuru, A., Imai, Y., Saito, M., and Kohno, K.		Novel mechanism of enhancing IRE1 α -XBP1 signalling via the PERK-ATF4 pathway.				
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	6	2016	24217 (1-8)	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1038/srep24217						
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				
Hirai, S., Kurashima, H., Nakamura, D., Komatsu, T., Yasuda, Y., Habashita-Obata, S., Ichikawa, S., Katsuta, O., Iwawaki, T., and Kohno, K.		2-Phenyl-APB-144-induced retinal pigment epithelium degeneration and its underlying mechanisms.				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
J. Ocul. Pharmacol. Ther.		有	31	2015	570-584	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1089/jop.2014.0076						
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				
Mathuranyanon, R., Tsukamoto, T., Takeuchi, A., Ishiwata-Kimata, Y., Tuchiya, Y., Kohno, K., and Kimata, Y.		Tight regulation of the unfolded protein sensor Ire1 by its intramolecularly antagonizing subdomain				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
J. Cell Sci.		有	128	2015	1762-1772	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1242/jcs.164111						
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				
小池雅昭, 河野憲二		タンパク質品質管理				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
生体の科学 増大特集「細胞シグナル操作法」(医学書院)		無	66	2 0 1 5	490-491	-
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(28)件/うち招待講演 計(1)件/うち国際学会 計(4)件

発 表 者 名		発 表 標 題	
Akio Tsuru, Yasutaka Imai, Michiko Saito, Kenji Kohno		PERK-ATF4 branch of the unfolded protein response is required for the full activation of IRE1a-XBP1 signaling	
学 会 等 名		発表年月日	発表場所
FASEB Science Research Conferences (国際学会)		2015年06月14日 ~ 2015年06月19日	Saxtons River, VT (USA)

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 新生ポリペプチド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
第67回日本細胞生物学会大会		2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発 表 者 名		発 表 標 題	
土屋 雄一, 斉藤 美知子, 宮崎 純一, 岩脇 隆夫, 河野 憲二		脾臓β細胞におけるIRE1αの小胞体プロテオスタシスにおける役割	
学 会 等 名		発表年月日	発表場所
第67回日本細胞生物学会大会		2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
大古殿 美加, 曾川 愛守榮, 河野 憲二	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
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
藤本 拓志, 斎藤 美知子, 都留 秋雄, 河野 憲二, 稲葉 謙次, 門倉 広	脾特異的に発現するPDIファミリータンパク質(PDIp)の生理的機能の解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
金谷 健太郎, 土屋 雄一, 河野 憲二, 稲葉 謙次, 門倉 広	インスリンと相互作用するPDIファミリータンパク質の同定	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

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, 阪口 雅郎	リボソームによる新生鎖の感知とトランスロコンの機能制御	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Satoshi Kanda, Kota Yanagitani, Kenji Kohno	A novel role of SRP pathway for efficient ER-targeting of translation-paused XBP1u in ER homeostasis.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Gordon Research Conferences "Stress Proteins in Growth, Development & Disease" (国際学会)	2015年07月05日 ~ 2015年07月10日	Lucca (Italy)

発 表 者 名	発 表 標 題	
小池 雅昭	ペプチド伸長鎖因子EF2におけるジフタミド修飾の生理的意義の解明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
保田 裕貴	タンパク質の品質管理に関わる小胞体膜タンパク質 DNAJB12 および DNAJB14 の機能解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
苅田 聡	A 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2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
曾川 愛守栄	哺乳動物細胞における XBP1u 新生鎖のたどる翻訳停止後の運命	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

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明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
額田 知美	ペプチド伸長鎖因子EF2におけるジフタミド修飾の生理的意義の解明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Yuichi Tuchiya	Physiological activation of IRE1 α upregulates a subset of insulin folding enzymes in pancreatic β cells	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Keystone Symposia "Diabetes: New Insights into Mechanism of Disease and Therapeutic Strategies(国際学会)	2015年10月25日 ~ 2015年10月29日	Westin Miyako Kyoto(京都府・京都市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
河原 郁美、亀田 倫史、池端 悠介、芦原 悠太、古板 恭子、杉木 俊彦、浜田 道昭、藤原 敏道、河野 憲二、田中 好幸、児嶋 長次郎	Substrate mRNA recognition mechanism of ER-stress sensor Ire1p RNase domain	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第54回NMR討論会	2015年11月06日 ~ 2015年11月08日	千葉工業大学(千葉県・習志野市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
河野 憲二	mRNAの局在化に働く新生鎖の機能解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
新学術領域研究会議	2015年11月13日 ~ 2015年11月15日	山形天童温泉(山形県・天童市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
小池 雅昭	eEF2におけるジフタミド修飾の生理的意義の解明	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
新学術領域研究会議	2015年11月13日 ~ 2015年11月15日	山形天童温泉(山形県・天童市)

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
新学術領域研究会議	2015年11月13日 ~ 2015年11月15日	山形天童温泉(山形県・天童市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
佐藤 仁美	膵島β細胞のインスリン産生におけるIRE1αの機能解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
小胞体ストレス研究会	2015年11月29日～ 2015年11月30日	淡路夢舞台(兵庫県・淡路市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
効田 聡	翻訳停止と共役したSRP経路によるXBP1スプライシングの促進	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
小胞体ストレス研究会	2015年11月29日～ 2015年11月30日	淡路夢舞台(兵庫県・淡路市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
土屋 雄一, 斉藤 美知子, 宮崎 純一, 岩脇 隆夫, 河野 憲二	膵臓β細胞でのIRE1αの小胞体プロテオスタシスにおける役割	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
BMB2015(日本分子生物学会・日本生化学会大会合同大会)	2015年12月01日～ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
効田 聡, 横田 有希子, 江崎 悠太, 柳谷 耕太, 河野 憲二	翻訳停止と共役したSRP経路によるXBP1スプライシングの促進	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
BMB2015(日本分子生物学会・日本生化学会大会合同大会)	2015年12月01日～ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発 表 者 名		発 表 標 題	
藤本 拓志, 斉藤 美知子, 都留 秋雄, 松本 雅記, 河野 憲二, 稲葉 謙次, 門倉 広		膵臓特異的に発現しているPDIファミリータンパク質(PDip)の生理的な機能の解析	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
BMB2015(日本分子生物学会・日本生化学会大会合同大会)		2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発 表 者 名		発 表 標 題	
小池 雅昭, 池端 悠介, 柳谷 耕太, 今川 佑介, 河原 郁美, 児嶋 長次郎, 河野 憲二		小胞体ストレスセンサーIRE1 α によるXBP1u mRNAスプライシングに必須な構造の解析	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
BMB2015(日本分子生物学会・日本生化学会大会合同大会)		2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発 表 者 名		発 表 標 題	
額田 知美, 小池 雅昭, 山田 麗奈, 斉藤 美知子, 伊川 正人, 河野 憲二		哺乳動物細胞におけるeEF2—ジフタミド修飾の機能解析	
学 会 等 名		発表年月日	発 表 場 所
BMB2015(日本分子生物学会・日本生化学会大会合同大会)		2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発 表 者 名		発 表 標 題	
大古殿 美加, 曾川 愛守榮, 木俣 行雄, 河野 憲二		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
BMB2015(日本分子生物学会・日本生化学会大会合同大会)		2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発 表 者 名	発 表 標 題	
Kenji Kohno,	Autonomous translational pausing is required for ER targeting and cytoplasmic splicing of XBP1u mRNA	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
NAIST International Workshop(招待講演)(国際学会)	2016年03月14日	奈良先端大(奈良県・生駒市)

(図書) 計(0)件

著 者 名	出 版 社		
書 名	発行年	総ページ数	

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, NAIST
<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/>