

所 属 (主指導教官)	遺伝子教育研究センター・動物細胞工学部門（河野憲二教授）		
氏 名	岩脇 隆夫	提 出	平成 13 年 1 月 9 日
題 目	小胞体ストレスに対する動物細胞の応答経路の解析		

要旨

小胞体は分泌タンパク質や膜タンパク質、あるいは脂質の合成を行うための重要な細胞内小器官であるが、それだけでなく、合成されたタンパク質が正しい高次構造をとる（folding）ためにも重要な役割を果たしている。細胞がグルコース飢餓や還元状態におかれると、小胞体内での糖鎖付加やジスルフィド結合形成が阻害され、変性タンパク質が蓄積する。これは小胞体ストレスと呼ばれ、細胞にとって非常に有害である。真核細胞では、小胞体ストレスを回避するために少なくとも2つの応答をすることが最近の研究により明らかになってきた。1つは小胞体内の変性タンパク質をrefoldingするためのシャペロン分子や分解除去するための分子の転写レベルでの誘導である。これは特にUnfolded Protein Response (UPR)とよばれる。もう1つは翻訳抑制であり、これにより、小胞体内での新生タンパク質のfoldingや糖鎖修飾の負担を軽減できる。特に、前者のUPRは出芽酵母を用いて非常によく研究されている。酵母Ire1pは小胞体膜に存在し、小胞体内の劣悪な環境を感知すると、転写因子であるHac1を活性化して、シャペロン分子等の遺伝子発現を誘導する。一方、後者の翻訳抑制応答は動物細胞を用いて研究されている。主にPERKが酵母Ire1pと同様に小胞体内の劣悪な環境を感知すると、eIF-2 α をリン酸化し、43S翻訳開始複合体の形成を阻害することで翻訳抑制がかかることが最近わかってきた。

本研究は、酵母に比べ、より複雑な動物細胞の小胞体ストレス応答経路を分子レベルで理解することを目的に行ったもので、本論文では（1）「酵母Ire1pのヒトホモログの単離とその機能解析」、（2）「小胞体ストレス応答におけるp38MAPKの関与」の2点に関し報告する。

（1）ヒトIRE1の単離と機能解析

ヒトではIre1pのホモログ分子は2つ存在し、現在ではIRE1 α 、 β とよばれている。本研究では、他のグループにより単離されたIRE1 α は酵母同様UPRのシグナル伝達分子として機能すること、一方、当研究室で単離したIRE1 β はUPRのシグナル伝達分子としては機能せず、小胞体ストレス下で28S rRNAを切断し、翻訳抑制に働くことを示す。これまで、小胞体ストレス下での翻訳抑制はeIF-2 α のリン酸化によるものしか知られていなかったが、本研究により、28S rRNAの切断による機構も明かとなった。翻訳抑制は小胞体ストレスに限った応答ではなく、PKRによるeIF-2 α のリン酸化とRNase Lによる28S rRNAの切断を介した翻訳抑制が抗ウイルス応答でも見られる。異なったストレス応答でも保存されていることから、これら2つの翻訳抑制機構は細胞にとって非常に重要な機構であると考えられる。

(2) 小胞体ストレス応答におけるp38MAPKの関与

最近、動物細胞におけるUPR経路のシグナル分子として、IRE1 α とは異なる型の分子ATF6が他のグループにより単離、解析されてきた。ATF6は通常、II型膜タンパク質として小胞体膜に存在し、小胞体内の劣悪な環境を感知すると、膜プロテアーゼであるS2Pを介したタンパク質のプロセシングにより、N末側の細胞質領域が小胞体膜から遊離する。その遊離した領域は核へと移行し、転写因子として機能し、小胞体シャペロン分子等の遺伝子発現を誘導する。小胞体ストレス時のATF6活性化機構の研究で、私はp38 MAPKの特異的阻害剤SB203580がATF6によるUPR誘導を阻害することを見い出した。このことは小胞体ストレス時のATF6の活性化にはp38 MAPKを介したリン酸化が必要であることを示している。

私はIRE1 β やATF6を主な研究対象としてきたが、これらが関わる小胞体ストレス応答のシグナル経路は、現在のところ、出芽酵母では知られていない。そのことから考えると、進化の過程で細胞は小胞体ストレスを回避するための多様な応答経路を獲得していったものと思われる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 岩脇 隆夫

真核生物の小胞体ストレス応答は、生物の環境ストレス応答・蛋白質の品質管理機構・変性蛋白質の蓄積による細胞死などの観点から細胞のホメオスタシスに関わる重要な応答として近年非常に注目されている。本論文は、動物細胞の小胞体ストレス応答経路における小胞体から核への情報伝達経路を解析したもので、以下の点を明らかにした。

(1) 動物細胞の小胞体ストレスセンサー分子として新規のヒトhIRE1 β 遺伝子のクローニングをした。この遺伝子にコードされているhIRE1 β 蛋白質は、N末側の小胞体内腔側領域で変性蛋白質の蓄積を感知し、細胞質側にあるキナーゼ/リボヌクレアーゼ領域を通じてシグナルを発信するI型の小胞体膜貫通蛋白質であることを示した。次に既に他研究室で単離されていたhIRE1 α と本研究室で単離したhIRE1 β との生理機能解析を行い、hIRE1 α は小胞体シャペロン遺伝子の転写レベルでの誘導を行うUPR経路

(Unfolded Protein Response Pathway) に関与するが、hIRE1 β は28S rRNAを特異的に切断し蛋白質合成を抑制することにより小胞体への新生蛋白質への流入を抑え、小胞体での蛋白質のfolding capacityを維持する機能を有していることを世界で初めて明らかにした。この結果、小胞体ストレス時に蛋白質合成の翻訳抑制に働く経路として、小胞体ストレスセンサー蛋白質PERKの活性化による翻訳開始因子のリン酸化による経路と、hIRE1 β の活性化による28S rRNA切断による経路の2つがあることがわかった。この2つの経路は、ウィルス感染時に活性化されるPKRとRNase Lによって引き起こされる経路と同様であることから、これら2つの翻訳抑制機構は細胞にとって重要なストレス応答機構と考えられる。

(2) 動物細胞で小胞体ストレス応答時におこるUPR経路は、最終的にATF6という転写因子を活性化することが報告されているが、この活性化にp38 MAPKを介した経路が重要であることを初めて示した。

以上のように本論文は、動物細胞の小胞体ストレス応答機構に全く新しい情報伝達経路があることを明らかにしたもので、細胞生物学の学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。