

平成14年度採択分

平成19年 3月31日現在

研究課題名 (和文) ユビキチン系による蛋白質品質管理とその破綻

研究課題名 (英文) Physiology and pathology of the ubiquitin-mediated quality control system

研究代表者

岩井 一宏 (Iwai Kazuhiro)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授



研究の概要: 研究代表者が明らかにしてきた鉄代謝制御因子 IRP2 の鉄依存的な酸化生成機構の解析を進め、細胞にはヘム介して鉄濃度の変化を感知するシステムが存在することを明らかにした。また、HOIL-1 ユビキチンリガーゼの機能解析をすすめ、HOIL-1 のアイソフォームである HOIL-1L を含有する LUBAC ユビキチンリガーゼ複合体が、これまでのユビキチン研究の概念を超越した N 末端のメチオニンの α -アミノ基を介した直鎖状ポリユビキチン鎖を形成するユビキチンリガーゼであることを示し、その生理機能の一端を明らかにした。加えて、個体レベルで酸化ストレスの産生源となる鉄代謝の神経変性疾患における役割の解析を進め、鉄代謝異常による酸化ストレスの亢進が神経変性疾患に果たす役割に関して新しい知見を得つつある。

研究分野/医化学一般・病態医化学/キーワード: 生体分子医学・加齢医学・異常代謝学・分子病態学

1. 研究開始当初の背景

ユビキチン修飾系は標的蛋白質に小蛋白質・ユビキチンを結合させてその機能を制御する。ユビキチン修飾系が生体制御において多彩な役割を担うのは、その時期、状況に応じた選択的な基質認識能力による。研究代表者は鉄による酸化修飾が選択的なユビキチン修飾のシグナルとなることを示してきた。また、鉄代謝異常は、反応性に富んだ鉄の蓄積による酸化ストレスを引き起こす。実際、種々の神経変性疾患において鉄の異常沈着が報告されるなど、鉄代謝異常は神経変性疾患研究のホット・トピックとなっている。

2. 研究の目的

(1) 研究代表者が世界に発信してきた、鉄代謝制御因子、IRP2 の鉄による酸化修飾を選択的に識別する HOIL-1 ユビキチンリガーゼの生理学的役割と破綻による疾患の発症に関する解析を目指した研究を進める。

(2) 鉄代謝異常による酸化ストレスの神経変性疾患の病態形成における役割の解明と治療法の開発を目指した研究を展開する。

3. 研究の方法

(1) 生化学、分光学的手法を用いて、IRP2 に酸化修飾の生じるメカニズムを解析するとともに、細胞生物学的手法、遺伝子改変マウスを用いて HOIL-1 ユビキチンリガーゼの生理機能の解析を進めた。

(2) 脳特異的 IRP2 トランスジェニックマウスを作製し、その解析を進めた。

4. 研究の主な成果

(1) a. IRP2 のヘム依存的酸化生成メカニズムの解析: IRP2 へのヘムの結合が、IRP2 の選択的なユビキチン修飾の第 1 ステップとなり、IRP2 に結合したヘムと、分子状酸素との反応によって生じる活性酸素種により酸化修飾を受けた IRP2 が HOIL-1 リガーゼに認識されることにより、ユビキチン化されることを明らかにした。

さらに、IRP2 の酸化を引き起こすヘムの結合様式を検索し、IRP2 に存在するヘム結合部位である heme regulatory motif (HRM) がヘムによる酸化を引き起こす特異な HRM であることを証明した。ヘムがミトコンドリアで形成されることを考えあわせると、ユビキチン研究を介して、細胞外から取り込まれた鉄がミトコンドリアでヘムに組み込まれた後、IRP2 に感知されるという、これまで想定されていなかった鉄感知経路の存在を明確にした。

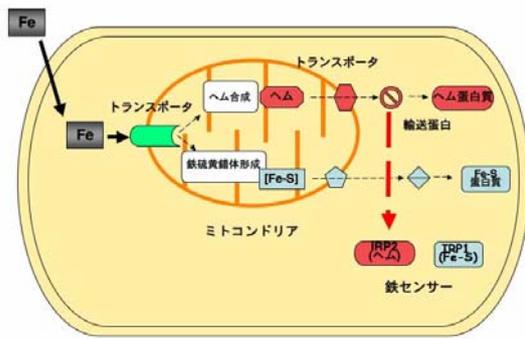


図 ヘムを介する細胞の鉄感知メカニズム

b. HOIL-1 ユビキチンリガーゼの解析：ユビキチン修飾系は多くの場合、複数のユビキチンが連続して結合して生成するポリユビキチン鎖によって標的蛋白質の機能を制御する。これまでに報告されているポリユビキチン鎖はユビキチンのリジン側鎖を介する。本研究で、HOIL-1 のアイソフォームであるHOIL-1L を含む LUBAC ユビキチンリガーゼ複合体が、これまでのユビキチン研究の概念を超越したN末端のメチオニンの α -アミノ基を介した直鎖状ポリユビキチン鎖を形成するユビキチンリガーゼであることを示すとともに、LUBAC がプロテインキナーゼCの活性化依存的分解に関与する可能性を示すなど、LUBAC の生理機能についての知見を明らかにしつつある。

(2) 鉄は生体に必須な微量元素であると同時に過剰量存在する場合にはフリーラジカルの産生源となり、酸化ストレスを引き起こす。アルツハイマー病を含め、種々の神経変性疾患において鉄代謝異常、酸化ストレスの病態形成への関与が報告されている。神経変性疾患における鉄代謝異常を解析する目的で、研究分担者と共同で neuron specific enolase (NSE) プロモーターを用いた脳特異的 IRP2 トランスジェニックマウス (NSE-IRP2 Tg) を作成し、鉄代謝異常による酸化ストレスの神経変性疾患への関与の解析を進めた。NSE-IRP2 Tg では著明な鉄蓄積は認められなかったが、反応性に富んだ Fe^{2+} の蓄積による酸化ストレスの亢進が認められた。さらに、加齢 Tg マウスでは神経細胞脱落、運動失調が観察され、神経変性疾患様症状を呈示することを示している。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

ユビキチン修飾系はエネルギー依存的蛋白質分解系の一部として発見された蛋白質翻訳後修飾系であるが、蛋白質分解はユビキチン

ン修飾系の機能の一部にしか過ぎず、今後もユビキチン修飾系が制御する生命現象は拡大し続けることが想定されている。ユビキチン修飾系の特徴はユビキチンが標的蛋白質に結合するユビキチンは1つではなく、結合したユビキチンにユビキチンが付加することにより形成されるポリユビキチン鎖によって標的蛋白質の機能を制御する場合が多い点にある。本学術創成研究の成果は世界に先駆けて新規な直鎖状ポリユビキチン鎖を生成するユビキチンリガーゼの存在とその生理機能を明らかにした非常に独創性が高い研究であり、世界のユビキチン研究者からも高く評価されている。

また、鉄代謝は欧米では原発性ヘモクロマトーシス患者が多いこともあり、以前から注目を集めていた。我が国においても、近年C型肝炎ウイルス発ガンや神経変性疾患などの疾患の原因となることが示されているのみならず、酸化ストレスの発生源となり種々の臓器障害の基礎にあることが示唆されるなど大きな注目を集めつつある。本研究で、遺伝子改変動物を用いて鉄蓄積自身ではなく、反応性に富んだ鉄の蓄積が神経細胞死、神経変性疾患の原因、増悪因子として機能することを明確にしたことは世界的にもインパクトがあると考えられる。

6. 主な発表論文

1. Kirisako, T., Kamei, K., Murata, S., Kato, M., Fukumoto, H., Kanie, M., Sano, S., Tokunaga, F., Tanaka, K. and Iwai, K. A ubiquitin ligase complex assembles linear polyubiquitin chains. **EMBO J.** 25:4877-4887, 2006.
2. Ishikawa, H., Kato, M., Hori, H., Ishimori, K., Kirisako, T., Tokunaga, F. and Iwai, K. Involvement of heme regulatory motif in heme-mediated ubiquitination and degradation of IRP2. **Molecular Cell** 19:171-181, 2005.
3. Yamanaka, K., Ishikawa, H., Megumi, Y., Tokunaga, F., Kanie, M., Rouault, T. A., Morishima, I., Minato, N., Ishimori, K. and Iwai, K. Identification of the ubiquitin-protein ligase that recognizes oxidized IRP2. **Nature Cell Biology** 5:336-340, 2003.

ホームページ等

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/mcb/>