

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料  
〔事後評価用〕

平成15年度採択分

平成20年 3月31日現在

研究課題名（和文）小胞体の機能と制御のダイナミクス

研究課題名（英文）Dynamics of the function and regulation of  
the endoplasmic reticulum

研究代表者

森 和俊 (MORI KAZUTOSHI)

京都大学・大学院理学研究科・教授



研究の概要：分泌タンパク質や膜タンパク質の品質を管理するオルガネラである小胞体の機能を維持するため、真核細胞は出芽酵母からヒトまで保存された転写制御機構 Unfolded Protein Response (UPR)もしくは小胞体ストレス応答を備えている。哺乳動物 UPR の分子機構を解析し、小胞体に構造異常タンパク質が蓄積したときに細胞がどのように対応するか、その基本原理を明らかにするとともに、UPR 進化に関する重要な知見を得た。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：細胞内情報伝達、小胞体ストレス

#### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質がその機能を発揮するためには、それぞれに固有の立体構造を獲得・形成していることが必要不可欠である。分泌タンパク質や膜タンパク質の高次構造形成は、真核細胞では小胞体において行なわれる。これまで小胞体は、折り畳みに適した環境を提供する“静的な場”として位置付けられてきたが、最近の急速な研究の進展から、小胞体はその機能と制御がダイナミックに連動した“動的な場”として捉え直され、注目されている。

#### 2. 研究の目的

“小胞体ストレス”と総括される様々な条件下では、高次構造の異常なタンパク質が小胞体内に蓄積して小胞体の機能が著しく損なわれる。小胞体の恒常性を維持するために、小胞体内に構造異常タンパク質が蓄積したときに細胞はどう対応するのか、その全体像を明らかにすることが本研究の目標である。

#### 3. 研究の方法

分子生物学、細胞生物学、生化学を活用し、種々の哺乳動物培養細胞を解析した。

小胞体膜結合性転写因子 ATF6 の輸送過程を生きた培養細胞の中で解析するため、GFP との融合タンパク質を発現させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いてリアルタイム観測した。

ATF6 (ATF6 $\alpha$  と ATF6 $\beta$  の2種存在) のノックアウトマウスを作製し表現型を解析した。

#### 4. 研究の主な成果

小胞体において高次構造を形成する分泌タンパク質や膜タンパク質の品質は、小胞体シャペロンによる折り畳み促進と小胞体関連分解による分解処理によって保たれている。小胞体ストレス下でこの品質管理機構が破綻し、高次構造の異常なタンパク質が蓄積すると、細胞はこの情報を核へ送り、小胞体シャペロンや小胞体関連分解構成因子を転写レベルで誘導して、小胞体の恒常性を維持しようとする。この小胞体から核への細胞内情報伝達を伴う転写誘導機構は Unfolded Protein Response (UPR) もしくは小胞体ストレス応答と呼ばれている。

本研究は、出芽酵母の UPR が Ire1p-Hac1p 経路のみから成るのに対し、哺乳動物 UPR では ATF6 経路と IRE1-XBP1 経路の2つが働いているのは何故かという観点に立脚して小胞体におけるタンパク質の品質管理の全体像を明らかにすることを目的として行った。

ATF6、XBP1 はともに代表者が単離同定した UPR 特異的転写因子である。ATF6 は小胞体膜貫通型タンパク質として構成的に合成されており、プロテオリシスにより活性化されるため、活性型 ATF6 は小胞体ストレス負荷後迅速に検出される。一方 XBP1 は、その mRNA が IRE1 依存的にスプライシングされた後に翻訳される必要があるため、活性型 XBP1 の出現には時間がかかる。この時差が巧みに利用されているのではないかと考え、検証した。

#### 〔4. 研究の主な成果 (続き)〕

解析結果に基づき、小胞体におけるタンパク質の品質管理について次のような全く独創的なモデルを提唱した。小胞体に蓄積した構造異常タンパク質は、小胞体シャペロンの作用を受けて巻き戻されるか、小胞体関連分解により分解されて排除されなければならない。構造異常タンパク質が蓄積すると、米国のグループにより同定された PERK による翻訳抑制機構が働き、常時豊富に発現している内在性シャペロンが作用する。この巻き戻しが不十分であると転写制御機構が働き始め、まず活性型の ATF6 が発現し、専ら小胞体シャペロンを転写誘導するので、構造異常タンパク質は巻き戻される。この巻き戻しも不十分であると活性型 XBP1 が発現し、小胞体シャペロンだけでなく ATF6 との共同作業によって小胞体関連分解構成因子が転写誘導され、構造異常タンパク質は巻き戻しとともに分解処理もされる。すなわち、細胞は異常タンパク質の処理法を時間経過に従って相転移させていく (ATF6 による巻き戻しのみの相から XBP1 による巻き戻しと分解の 2 方向性の相へ) という時間依存的相転移モデルを確立した。この方針によって細胞は、膨大な量の ATP を使って合成し折り畳んだタンパク質を最大限に使用することができる。

出芽酵母からヒトまで保存されている IRE1 経路は広範な遺伝子の転写誘導を担っていることが米国のグループにより報告されている。これに対し、マイクロアレイで解析した 14,729 遺伝子のうちわずか 30 個が ATF6 に特有の標的遺伝子であり、このうち 60% が小胞体シャペロンや ERAD 因子などであったことから、ATF6 は小胞体におけるタンパク質の品質管理に特化した転写因子であると結論した。ATF6 は線虫やショウジョウバエでは UPR に関与しておらず、高等動物になって初めて重要な役割を獲得しており、タンパク質の品質管理の進化を考察する上で極めて重要な情報が得られた。

本研究のもう一つの重要課題として取り組んだのは、細胞にとって高次構造の異常なタンパク質とは一体何かという問題である。この間は、小胞体ストレス応答の生理的意義を明らかにし、分子機構解析の結果を疾患治療に応用するにあたって極めて重要である。その答えを出すためには、ATF6 の活性化機構を解明することが最も有効なアプローチとなると考えた。IRE1 経路とは異なり、ATF6 はそれ自身で小胞体ストレスの感知から核内での転写活性化まで実行する。ATF6 の活性化機構を解析し、認識部位の同定を通して ATF6 を小胞体からゴルジ装置へエスコートするタンパク質の存在を示すとともにジスルフィド結合の還元 (酸化的環境の小胞体で起こる) という極めて興味深い発見をした。

#### 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

本研究によって確固たるものとなった哺乳動物小胞体ストレス応答における時間依存的相転移モデルは、全く独創的なものであり、国内のみならず世界的に見ても、小胞体ストレス応答の捉え方のスタンダードとして高く評価され、広く受け入れられており、その学術的価値は極めて高いと考えられる。

小胞体ストレスという概念の重要性は現在多方面に波及している。本研究によって、小胞体ストレス応答の基本的枠組みがほぼ完全に明らかになったことで、今後益々多方面の研究者が参入しやすくなり、小胞体ストレス応答の種々の疾患への関与が解明されるための貴重な一里塚となった。

#### 6. 主な発表論文

- (1) ATF6 is a transcription factor specialized in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum. Y. Adachi, K. Yamamoto, T. Okada, H. Yoshida, A. Harada and **K. Mori**, *Cell Struc. Func.*, 33, 75-89, 2008.
- (2) Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6 $\alpha$  and XBP1. K. Yamamoto, T. Sato, T. Matsui, M. Sato, T. Okada, H. Yoshida, A. Harada and **K. Mori**, *Dev. Cell*, 13, 365-376, 2007.
- (3) Role of disulfide bridges formed in the luminal domain of ATF6 in sensing endoplasmic reticulum stress. S. Nadanaka, T. Okada, H. Yoshida, and **K. Mori**, *Mol. Cell. Biol.*, 27, 1027-1043, 2007.
- (4) Derlin-2 and Derlin-3 are regulated by the mammalian unfolded protein response and are required for ER-associated degradation. Y. Oda, T. Okada, H. Yoshida, R. J. Kaufman, K. Nagata and **K. Mori**, *J. Cell Biol.*, 172, 383-393, 2006.
- (5) Activation of mammalian unfolded protein response is compatible with the quality control system operating in the endoplasmic reticulum. S. Nadanaka, H. Yoshida, F. Kano, M. Murata, and **K. Mori**, *Mol. Biol. Cell*, 15, 2537-2548, 2004.
- (6) Cdc2 kinase-dependent disassembly of endoplasmic reticulum (ER) exit sites inhibits ER-to-Golgi vesicular transport during mitosis. Kano, F., Tanaka, A.R., Yamauchi, S., Kondo, H., Murata, M., *Mol. Biol. Cell*, 15, 4289-4298, 2004.

ホームページ等

<http://www.users.kudpc.kyoto-u.ac.jp/~s50218/mori/>