

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成 21 年度採択分

平成 24 年 5 月 28 日現在

研究課題名（和文） **プロテアソームを基軸としたタンパク質  
分解系の包括的研究**

研究課題名（英文） **In-depth Analysis of Proteasome-Mediated  
Regulatory Proteolysis**

研究代表者

**田中 啓二 (TANAKA KEIJI)**

公益財団法人 東京都医学総合研究所・生体分子先端研究分野・所長



研究の概要：高齢化社会を迎えた今日、タンパク質分解の破綻に伴って発症する疾病が急増しており、タンパク質分解の生理と病態に関する研究の重要性は、拡大の一途を辿っている。本課題では、巨大で複雑なタンパク質分解装置であるプロテアソームの構造・機能・動態に関する研究、タンパク質分解の目印として作用するユビキチンの解析、オートファジーに関する研究について、分子から固体レベルに至る研究を包括的に推進して健康科学の発展に貢献する。

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：プロテアソーム、ユビキチン、オートファジー

#### 1. 研究開始当初の背景

20 世紀後半、爆発的に進展した生命科学の中心は“遺伝子からタンパク質合成に至る研究”に集約される「タンパク質の生の生物学」であったが、今日「タンパク質分解、即ちタンパク質の死の生物学」の研究の飛躍的な発展から“タンパク質の死は生と同様に非常に重要である”との考え方が生命科学の隅々に定着しつつある。タンパク質の寿命（ゲノム遺伝子にコードされていない第二の遺伝情報）は数分～数ヶ月と千差万別であり、その解明（デコード）は 21 世紀の生命科学研究が克服すべき最大の課題の一つである。

#### 2. 研究の目的

生体を構成する主要成分であり、生命現象を支える機能素子であるタンパク質は、細胞内で絶えず合成と分解を繰り返しており、きわめて動的なリサイクルシステムを構成している。実際、細胞内の全てのタンパク質は、千差万別の寿命をもってダイナミックにターンオーバーしており、タンパク質分解がこの新陳代謝の中心を担っている。プロテアソームは、分解シグナルとして働くユビキチン（荷札のような目印）が結合したタンパク質を選択的に壊す特殊な細胞内装置である。生体機能を調節するタンパク質やストレス等で傷害を受けたタンパク質は、このユビキチン・プロテアソームシステムによって速やかに分解され、このシステムが異常になると癌・免疫疾患・神経病などの重篤な病気になる。

る。またごく最近、ユビキチンがもう一つのタンパク質分解系であるオートファジーにも関係し、その破綻によって肝疾病や神経変性疾患が発症することが判明した。このように細胞内タンパク質分解系は、生命の謎を解くキープレイヤーであると共に健康を守るための重要な生体監視システムである。本課題では、真核生物の細胞内に存在する二つの大規模なタンパク質分解系であるユビキチン・プロテアソームシステムとオートファジー・リソソームシステムについての動態と病態生理に関する先導的な研究を推進する。

#### 3. 研究の方法

生化学・細胞生物学・免疫学・分子生物学的技術を中心に、構造生物学的及び分子遺伝学的方法など現代の生命科学が開発してきた最先端の研究手段を駆使した。

#### 4. これまでの成果

① プロテアソームに関する研究  
26S プロテアソームの形成機構についてこれまで 10 余種の分子集合シャペロンを発見してきたが、これらの分子群の構造生物学的解析を進めると共に、脱ユビキチン酵素 Ubp6 がその形成に関与していることを明らかにした。また 26S プロテアソームの内在性サブユニット Rpn10 と Rpn13（ユビキチン受容体）の位置情報を極低温電子顕微鏡による単粒子解析から突き止めた。以前に発見していた免疫プロテアソームのキモトリプシン型活性をコードする  $\beta 5i$  遺伝子（*PSMB8*）のミス

センス変異が、中条-西村症候群（凍瘡様皮疹と限局性脂肪萎縮を伴う遺伝性周期熱症候群）を引き起こすことを突き止めた。また最近発見した胸腺プロテアソームの胸腺特異的発現に関与する転写因子の同定に成功した。以上、生命科学史上他に類を見ない巨大で複雑な酵素複合体であるプロテアソームの時空間的な動態解析と作動機構の解明は、生命現象の謎に迫ると共にその破綻に伴う疾病の発症機構や治療法開発に貢献することが期待される。

#### ② ユビキチンに関する研究

常染色体劣性家族性パーキンソン病の原因遺伝子である PINK1（タンパク質リン酸化酵素）と Parkin（ユビキチン連結酵素）によるミトコンドリア品質管理機構（不良品処理機構）を解析する過程で、両酵素が膜電位低下依存的に活性化する新しい仕組み（不良性を識別する仕組み）を発見した。その他、ユビキチン代謝系の多彩な役割を分子レベルで解析しその破綻で発症する疾病の解明に向けた研究に取り組み、大きな成果を挙げた。

#### ③ オートファジーに関する研究

われわれが世界で最初に作出した多数の組織特異的オートファジー欠損マウスを駆使してオートファジーの多面的な役割を解明すると共に、われわれが見出した‘選択的オートファジー’の作動機構を個体レベルで解析した。オートファジーを肝臓で長期間欠損させると、選択的基質 p62 が蓄積、Keap1（酸化ストレス応答ユビキチンリガーゼ）に直接会合・安定化して、（抗酸化／解毒応答）マスター転写因子 Nrf2 を持続的に活性化することにより、肝細胞ガンが促進（initiation でなく progression）することを発見した。

#### 5. 今後の計画

(1) プロテアソームについては、超高感度計測技術を導入して、細胞における動態と作動機構について 1 分子レベルで解明する。

(2) CD8<sup>+</sup>T リンパ球のレパトア形成機構の鍵となる胸腺プロテアソームについて、その作動機構を解明し、胸腺における positive selection を誘導する抗原ペプチドを同定、自己と非自己の識別という分子免疫学の根幹に関わるテーマの進展に寄与する。(3) オートファジーの破綻による肝細胞ガンの発症機構について、その鍵分子である p62 の分子動態機序（リン酸化による制御）を解明し、治療薬開発に向けた基盤的研究を開始する。

(4) PINK1 と Parkin の動態・制御機構の全体像解析からミトコンドリアの品質管理機構を明らかにし、パーキンソン病の発症機構解明に迫る。

#### 6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

【欧文原著論文】（計 52 件）

- (1) Kono, K., Saeki, Y., Yoshida, S., Tanaka, K., and Pellman, D. (2012) Proteasomal degradation resolves competition between cell polarization and cellular wound healing. Cell in press.
- (2) Takamura, A., Komatsu, M., Hara, T., Sakamoto, A., Kishi, C., Waguri, S., Eishi, Y., Hino O., Tanaka, K., and Mizushima, N. (2011) Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. Genes Dev. 25, 795-800.
- (3) Sakata, E., Stengel, F., Fukunaga, K., Zhou, M., Saeki, Y., Förster, F., Baumeister, W.\*, Tanaka, K.\*, and Robinson, CV.\* (2011) The catalytic activity of Ubp6 enhances maturation of the proteasomal regulatory particle. Mol. Cell 42, 637-649. (\*correspondences)
- (4) Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, CA Sou, Y., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N., and Tanaka, K. (2010) PINK1 stabilized by depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. J Cell Biol. 189, 211-221.
- (5) Saeki, Y., Toh-e, A., Kudo, T., Kawamura, H., and Tanaka, K. (2009) Multiple proteasome-interacting proteins assist the assembly of the yeast 19S regulatory particle. Cell 137, 900-913.
- (6) Kaneko, T., Hamazaki, J., Iemura, S., Sasaki, K., Furuyama, K., Natsume, T., Tanaka, K., and Murata, S. (2009) Assembly pathway of the mammalian proteasome base subcomplex is mediated by multiple specific chaperones. Cell 137, 914-925.
- (7) Kimura, Y., Yashiroda, H., Kudo, T., Koitabashi, S., Murata, S., Kakizuka, A., and Tanaka, K. (2009) An inhibitor of deubiquitinating enzyme regulates ubiquitin homeostasis. Cell 137, 549-559.

【欧文総説論文】（計 13 件）

- (1) Tanaka, K., Mizushima, T., and Saeki, Y. (2012) The proteasome: molecular machinery and pathophysiological roles. Biol. Chem. 393, 217-234.
- (2) Takahama, Y., Takada, K., Murata, S., and Tanaka, K. (2012)  $\beta$ 5t-containing thymoproteasome: thymic cortical epithelial cell-specific expression and role in positive selection of CD8<sup>+</sup> T cells. Curr. Opin. Immunol. 24, 92-98.
- (3) Murata, S., Yashiroda, H., and Tanaka, K. (2009) Molecular mechanisms of proteasome assembly. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 10, 104-115.

【受賞等】

- 平成 2 1 年 武田医学賞
- 平成 2 1 年 ナイスステップ研究者 2009
- 平成 2 2 年 日本学士院賞
- 平成 2 2 年 徳島新聞賞科学賞
- 平成 2 2 年 徳島大学栄誉賞
- 平成 2 3 年 日本内分泌学会マイスター賞
- 平成 2 3 年 慶應医学賞

【ホームページ等】

<http://www.igakuken.or.jp/pro-meta/>