

『ASK ファミリーによるストレス応答 ～細胞がストレスを感じる仕組みと疾患～』

東京大学 大学院薬学系研究科・細胞情報学教室

JST・戦略的創造研究推進事業・CREST

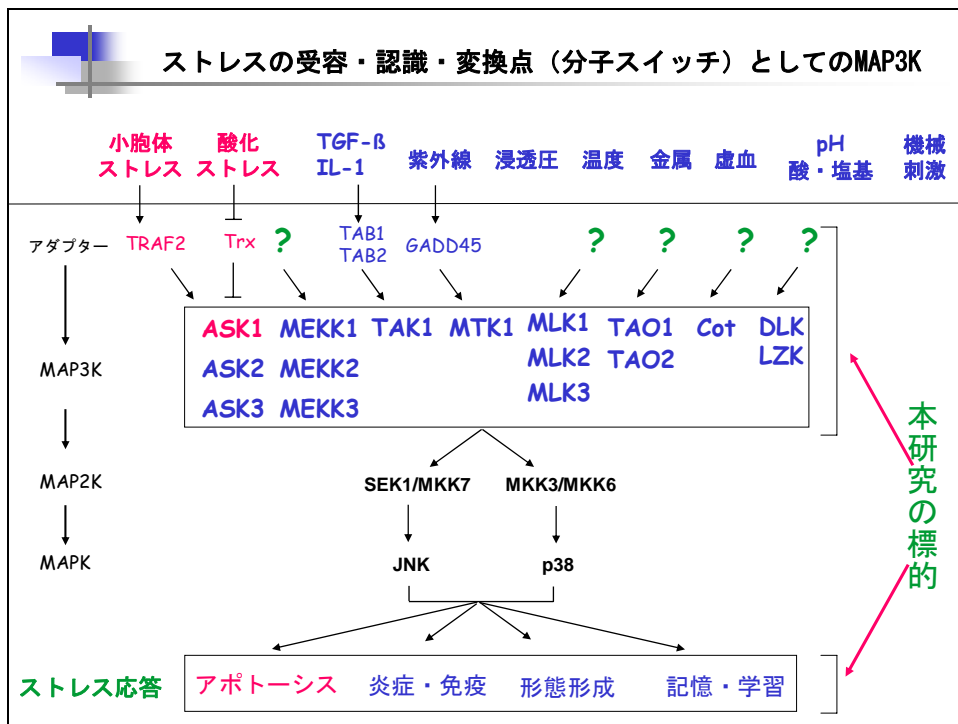
一條 秀憲

はじめに

近年、地球規模での環境変化が深刻化している。CO₂による地球温暖化やオゾン層破壊による紫外線量の増加をはじめ、排気ガスや工場廃液などの有害化学物質による汚染、さらには薬剤耐性菌や新型インフルエンザの出現等、地球環境を劣化させる環境ストレスの種類ならびに量が激増しつつある。環境ストレスの解消は社会的要請度の極めて高い問題であるが、生物学的観点からはヒトや動植物がどのようにして環境ストレスに対処・適応するかを明らかにすることが未解明の重要な問題である。次々と出現してくる新たな環境ストレスに対する細胞生物学的反応(=ストレス応答)の分子機構を明らかにすることは、疾患・創薬研究にとって極めて重要な研究課題である。細胞におけるストレス応答機構の破綻は様々な疾患の発症原因となるが、多様な環境ストレスに対するセンサーの実体ならびにシグナル伝達機構については明らかにすべきことが多く残されている。私たちは、「細胞がストレスを感知し、ストレスに適切に応答する仕組み」を明らかにするために、物理化学的ストレスによる MAP キナーゼファミリーの活性化機構とその病態生理学的意義を中心に解析している。本セミナーではストレス応答の分子機構から創薬基盤の創出を目指す私たちのアプローチの一端をご紹介します。

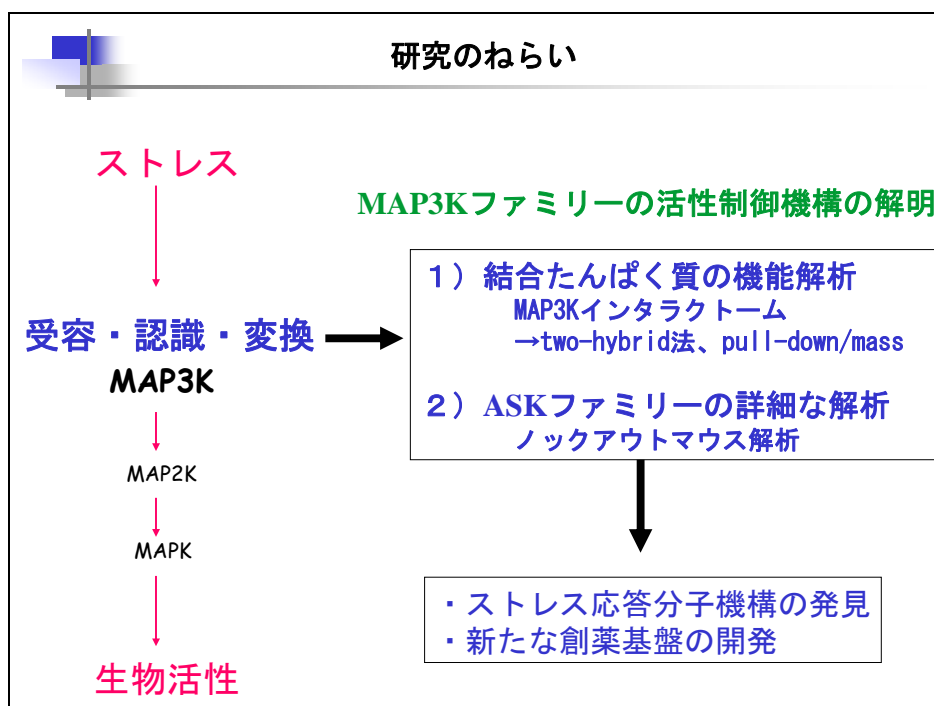
研究のねらい

紫外線、熱、放射線などの物理的ストレス、ホルムアルデヒド、環境ホルモンなどの化学的ストレス、あるいはウイルス、細菌などの生物的ストレス等に代表される環境ストレスに対し、細胞は多種多様なストレス応答機構をもって対処・適応することが明らかになりつつある。一方で、ストレス応答機構の破綻が、神経変性、癌、アレルギー、糖尿病など、多様な疾患の原因となることが分子レベルで明らかになりつつあり、にわかに注目を集めている。本研究は、「細胞がストレスを感知し、ストレスに適切に応答する仕組み」を明らかにするために、環境ストレスによる MAP3K ファミリー活性化機構について解析するものである (図1)。



(図1)

ストレス応答機構の破綻は様々な疾患の発症原因となるが、多様な環境ストレスに対するセンサーの実体ならびにシグナル伝達機構については不明な点が多い。本研究では、われわれの先進性ならびに独自性が高い ASK1-MAP キナーゼ系ならびに ASK ファミリー分子群の解析を軸に据え、two-hybrid スクリーニングならびにプルダウン法による結合タンパク質解析とノックアウトマウス解析を主な手法として MAP3K ファミリー結合タンパク質の機能解析を行い、細胞のストレス応答分子機構の解明と創薬基盤の創出を目指している (図2)。

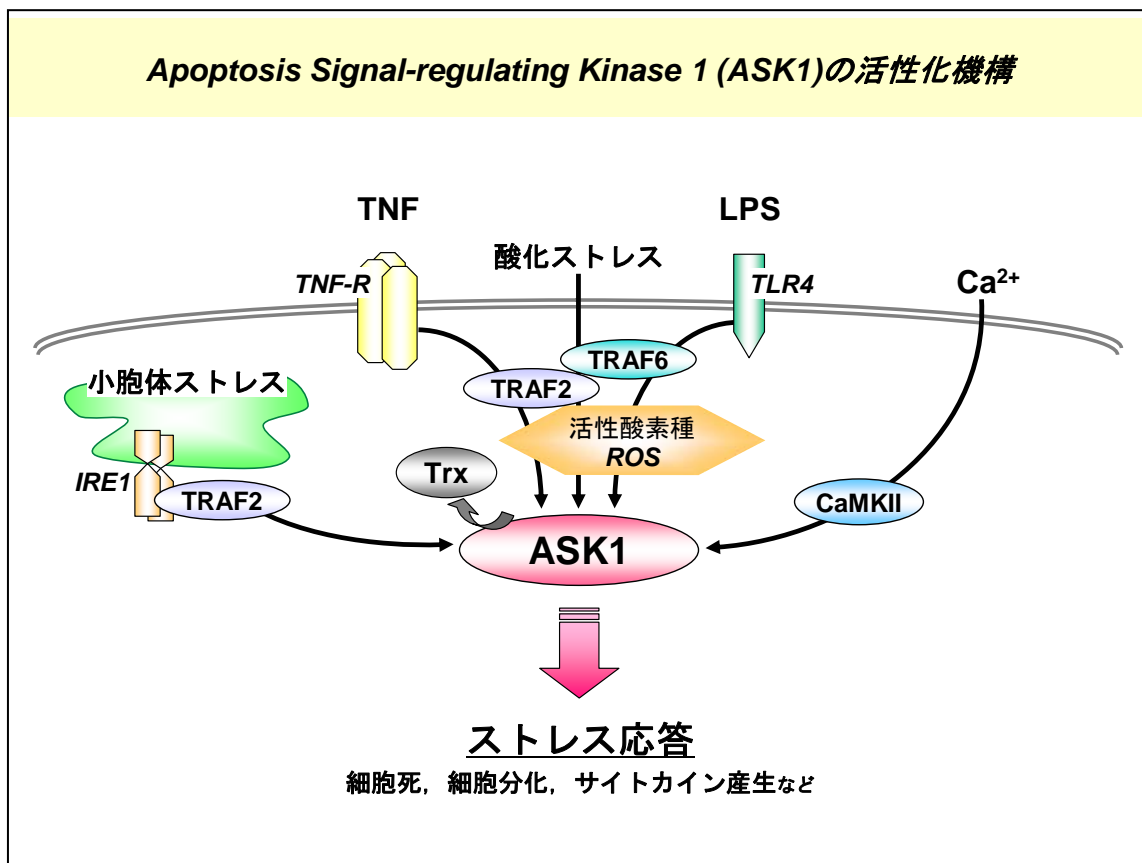


(図2)

研究成果

これまでの研究により、ASK1 は様々な環境ストレスに応答して細胞の生死や分化をコントロールするためのシグナル伝達系として機能していることが明らかになってきた。ASK1 ノックアウトマウスの解析により、ASK1 が酸化ストレスや小胞体ストレスによるアポトーシスに必要なシグナル分子であることも明らかになり、また ASK1 がポリグルタミン病やアルツハイマー病において認められる神経細胞死のメディエーターとしてこれらの疾患に深く関わっていることも示唆されている。一方、ASK1 は一部の Toll-like Receptor の下流で主に p38 の活性化を選択的に担うことによって自然免疫応答に必須の働きをすることも明らかになってきた (図3)。

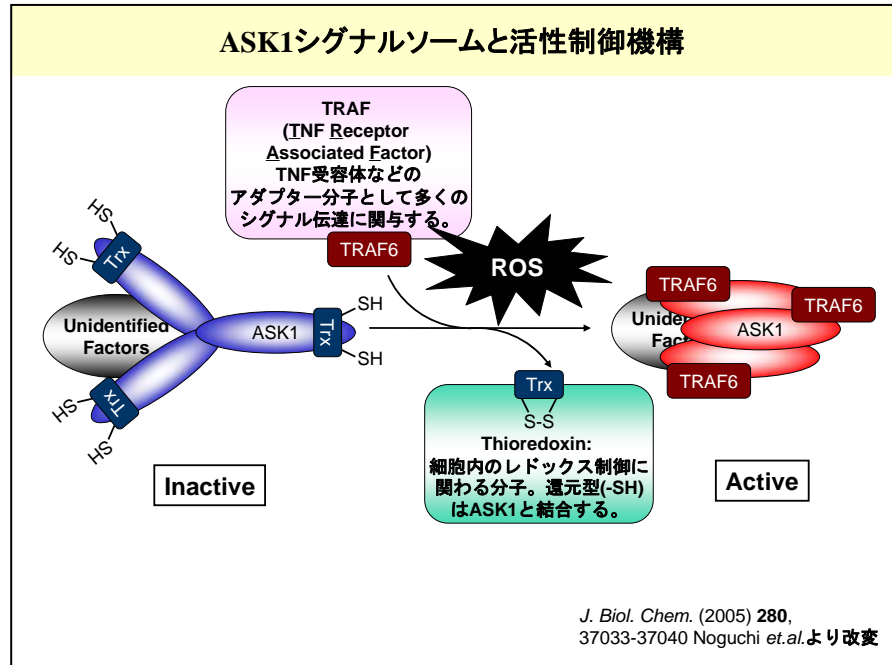
このように多様な細胞内外の刺激によって活性化される ASK1 の結合タンパク質解析を行うことによって、以下に示すような様々なストレス応答の分子機構が明らかになってきた。



(図3)

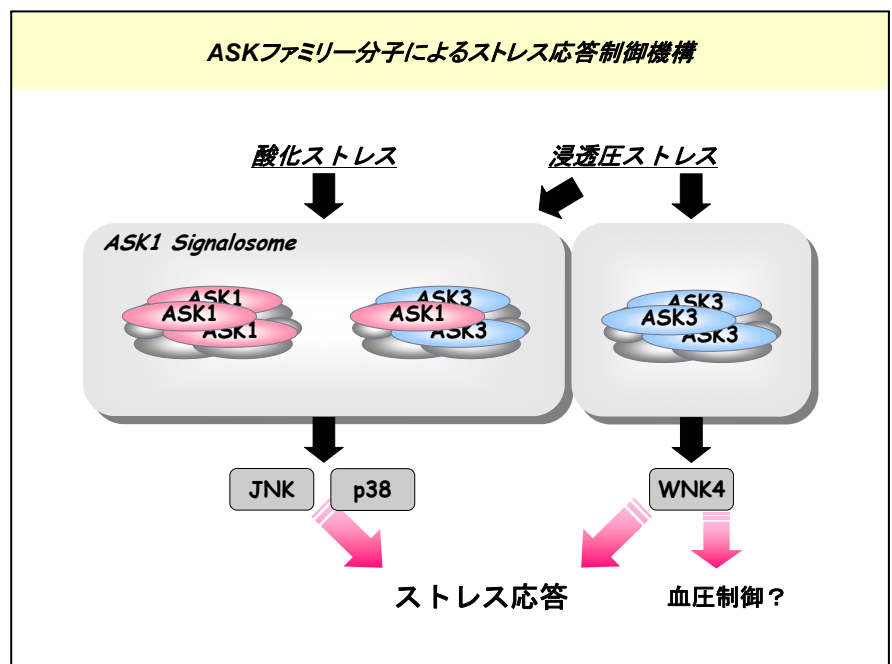
1) ASK1 シグナルソームの役割

ASK1 の活性化機構において ASK1 自身のホモオリゴマー形成の重要性が示唆されてきたが、その詳細は明らかではなかった。細胞内における ASK1 複合体の解析を試みたところ、ASK1 は定常状態においてすでにホモオリゴマーを形成しており、ASK1 の抑制因子であるチオレドキシシン(Trx)とともに2,000kDaに達するシグナルソームを形成していることが明らかとなった。さらに過酸化水素存在下では、このASK1 シグナルソームから Trx が解離し、相反して TNF receptor-associated factor 2 (TRAF2)や TRAF6 がリクルートされることでさらに高分子量化し、ASK1 が活性化することが明らかとなった (図4)。



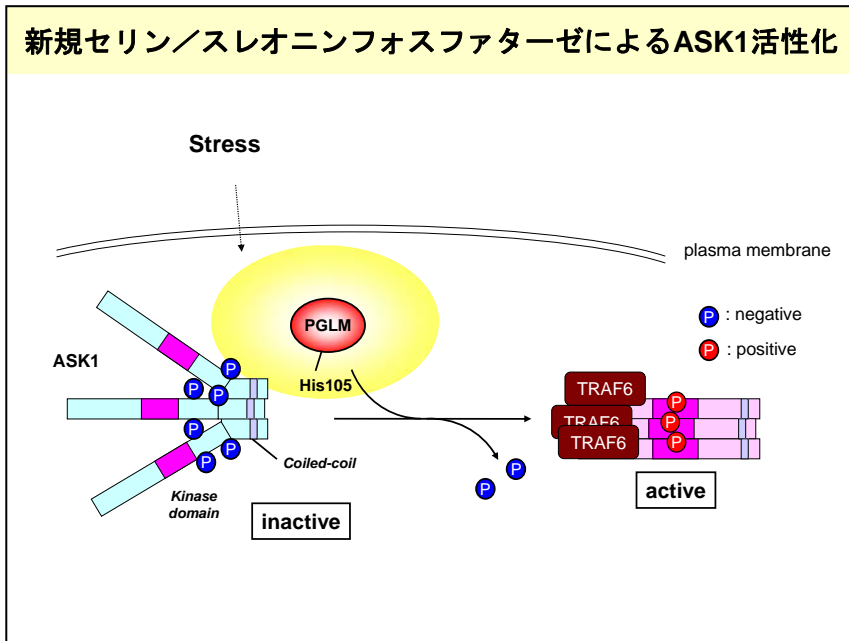
2) 新規 ASK ファミリー分子 ASK3 による浸透圧ストレス応答

ASK1 の相同分子としての ASK2 に加え、新規 ASK ファミリー分子 ASK3 を同定した。興味深いことに、ASK1 を活性化することが知られている高浸透圧刺激が ASK3 を不活性化すること、逆に低浸透圧刺激では ASK3 が活性化されることが判明した。ASK3 結合タンパク質の解析から ASK3 が浸透圧の恒常性維持機能を持っている可能性が強く示唆されている (図5)。



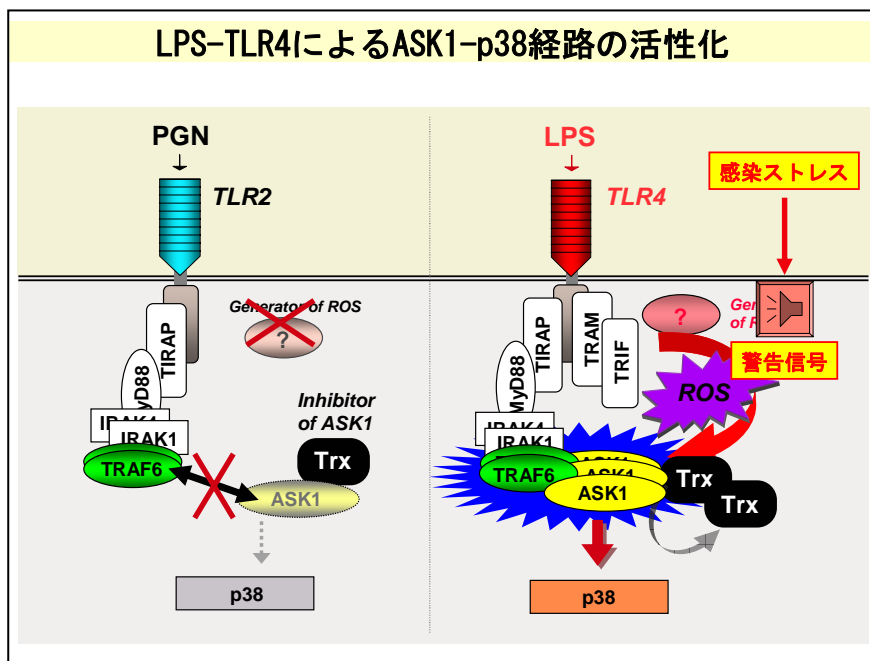
3) 新規タンパク脱リン酸化酵素 PGLM によるストレス応答

新たな ASK1 結合分子として PGLM (phosphoglycerate mutase (PGAM)-like protein containing a putative trans-membrane domain) を同定した。リン酸化ペプチドを用いた *in vitro* 実験等により、PGLM はセリン/スレオニンフォスファターゼ活性によって ASK1 を活性化することが明らかとなった。よって PGLM は新しい構造を持つタンパク脱リン酸化酵素として機能し、新たな機構で ASK1 の活性を制御する分子であることが示唆される (図 6)。



4) 病原体ストレス応答における ASK1-p38 系シグナルの解析

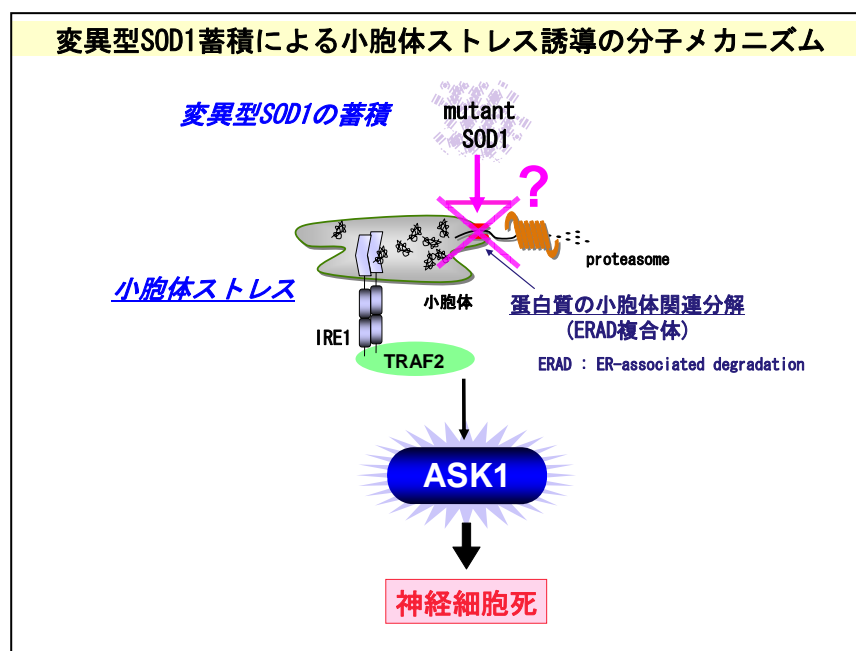
ASK1-p38 経路は自然免疫応答に重要な働きを持つことが明らかになった。TLR4 リガンド刺激特異的な ASK1-p38 経路の活性化メカニズムを検討したところ、ASK1 及び p38 の活性化ならびに TRAF6 と ASK1 との結合は、活性酸素種を介してされることが明らかになった (図 7)。



5) 家族性筋萎縮性側索硬化症における ASK1 の関与

神経変性疾患の一つである筋萎縮性側索硬化症(ALS)のうち、家族性 ALS の一部は *SOD1* 遺伝子の変異が原因で発症する。その発症機構は、変異 *SOD1* タンパク質が細胞内に蓄積することによって細胞毒性を發揮し、運動神経細胞が変性をきたすことによると考えられている。ALS 発症分子機構の解明を目的として、変異 *SOD1* によって惹起される運動神経細胞死における ASK1 の役割について検討を行った。

SOD1(G93A)Tg マウスと ASK1^{-/-}マウスの交配実験ならびに ASK1^{-/-}マウス由来運動細胞における変異 *SOD1* の過剰発現系の結果から、ALS の病態進行における ASK1 の必要性が強く示唆され、ASK1 を標的とした創薬の有用性が示唆された (図8)。



今後の展望

私たちは、ストレス応答シグナル伝達機構のプロトタイプとしての ASK1-MAP キナーゼ系ならびにストレスセンサーとしての MAP3K ファミリーについて構造機能相関に基づく分子機能の比較解析を行い、ストレス応答機構の包括的解明とその創薬基盤開発を全体目標として研究を行ってきた。その結果、現在までにこれらのストレス応答シグナル系が、炎症、がん、神経変性などの発症に深く関与することが次々と明らかになり、本研究の成果が全く新しい創薬基盤の開発へと発展しつつある。今後もさらなる結合タンパク質スクリーニングを継続しながらこれらの分子の機能解析を行うことにより、「ストレス応答シグナルの破綻と疾患発症メカニズム」の解明を目指したい。

参考文献

- 1) Ichijo et al. Science 1997
- 2) Saitoh et al. EMBO J. 1998
- 3) Tobiume et al. EMBO rep. 2001
- 4) Nishitoh et al. Genes & Dev. 2002
- 5) Kadowaki et al. Cell Death & Diff. 2005
- 6) Matsuzawa et al. Nat. Immunol. 2005
- 7) Noguchi et al. J. Biol. Chem. 2005