

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590283

研究課題名(和文)蛋白質リン酸化オシレータによる概日システムの統合制御

研究課題名(英文) Integral control of circadian system by circadian protein phosphorylating oscillator

研究代表者

田丸 輝也 (TAMARU, Teruya)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：80291706

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：体内概日時計システムは、全身の生命活動の時間的制御を統括し、環境・ストレスへの適応応答として同調性を有する。その機能不全は生活習慣病・癌等の危険因子となる。本研究では、日周性キナーゼCK2をコアとした蛋白質リン酸化オシレータによる時刻特異的・周期的な機能制御系を解析した。その結果、CK2活性の日周変動機構と体内概日時計システムにおける統括的役割を解明した。また、疾患過程に關与する細胞傷害ストレス；ヒートショック、活性酸素により、体内時計の同調が起き、同調反応とそれに伴う適応防御応答系(ヒートショック応答系、抗アポトーシス系、抗酸化系等)の賦活化をCK2が統括制御する事を解明した。

研究成果の概要(英文)：Circadian clock system integrates various physiological activities in whole body, and exhibits synchronizing properties as adaptive responses toward environments/ stresses. Thus, clock dysfunction become risk factors such for various lifestyle related diseases and cancer. This study examined time-specific and periodic regulatory system with CK2-orchestrated circadian protein phosphorylating oscillator. We elucidated circadian-oscillatory mechanism of CK2 activity and pivotal role of CK2 in integrating circadian system. Additionally, we found clock-synchronization by cell injury stresses, critical in disease processes, heat shock and reactive oxygen species, and integrative role of CK2 in the synergistic clock synchronization and the activation of stress-protective pathways, such as heat-shock response, anti-apoptotic and anti-oxidant pathways.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学(含体力医学・栄養生理学)

キーワード：Circadian rhythm Phosphorylation Heat shock Apoptosis Anti-oxidant Reactive oxygen species Bioluminescence stress

1. 研究開始当初の背景

哺乳類の概日時計は、脳の中樞時計 (SCN) のみならず、全身のあらゆる細胞 (末梢時計) で機能している。外部環境への同調系から、タイムキーパーとなる自律振動系 (ネガティブフィードバック機構によるオシレータ)、遺伝子発現系 (ゲノムの 10-20% の時計制御遺伝子が日周変動する) を含む出力系に至る概日システム (CTS) は、様々なタイミングで発現する生理機能を時空間的に精密に統合制御し、生物が外部環境の日内変動に応じて最適のタイミングで機能する為の必須の系である。CTS の機能不全は睡眠障害、メタボリックシンドローム、癌、神経・精神疾患などの憎悪に関わっている。

近年の研究によって、CTS 制御の分子基盤分子 (概日) 時計は、コア時計制御転写因子 (時計蛋白質) (BMAL1, CLOCK, CRY, PER) が構成する転写・翻訳オシレータによる日周性の遺伝子/蛋白質発現制御を中心に徐々に明らかになってきたが、様々な蛋白質がそれぞれどのような日内タイミングで修飾をうけ、どのような細胞内情報伝達系 (日周性シグナロソーム) を構成するのか、それにより生理機能の時間的統合制御が如何になされているかは未解明の部分が多く残されホットなトピックであった。

報告者は、哺乳類概日時計の分子機構を、時計を制御する転写因子・修飾酵素に焦点をあてて研究を進めてきた。早くから「日周性に活性変動するプロテインキナーゼが、蛋白質リン酸化オシレータとして様々な細胞内機能蛋白質を時刻依存的にリン酸化することによって概日システムを統合制御する」という独自の仮説を立て、探索を行い、日周変動性キナーゼ PFK を発見した。最近、その内の一つである p45PFK が CK2 であることを同定した。CK2 は、時計制御転写促進因子 BMAL1 の Ser90 を日周性にリン酸化し、それが BMAL1 の核移行のために必要であり、核内での時計制御遺伝子の日周性発現に必須であることを解明した (Nat Struct Mol Biol 2009)。さらに米 UCI の Sassone-Corsi 教授と国際共同研究を行い、BMAL1 の日周性 SUMO 化による蛋白質分解制御 (Science 2005)、BMAL1 の日周性 Acetyl 化による時計制御転写抑制因子 CRY の BMAL1 への結合の制御 (Nature 2007) が時計制御遺伝子発現制御に必須な蛋白質修飾であることを発見していた。

報告者の見いだした日周性リン酸化 (オシレータ) に着目した知見は乏しく、独自性があった。故に、CK2 の日周活性変動のメカニズムを明らかにすることは、哺乳類 CTS のコアとなると想定される分子時計が、これまでいわれている転写-翻訳フィードバックループだけでなく翻訳後修飾を組込んだフィードバックループ (蛋白質リン酸化オシレータ) によって振動しているという新たな概念を導くことになると考えた。

2. 研究の目的

本研究では：I) CK2 によるリン酸化が BMAL1 の日周性修飾を閉鎖制御することを強く示唆するデータを得ていたので、それを検証する。II) CK2 をコアとした蛋白質リン酸化オシレータの活性振動機構を明らかにする。I, II で得られた知見を土台にして、III) 蛋白質リン酸化オシレータが制御する日周性シグナロソームの生理的意義として、発癌プロセスへの関与を明らかにする。IV) CTS 同調系からの蛋白質リン酸化オシレータへの入力系の 1 つとして熱ショック応答系への関与を明らかにすることを主たる目的とした。また、本研究課題の展開により、CTS を統合制御する CK2 をコアとした日周性シグナロソームの構成とその生理的役割が解明されることが期待される。その成果は、CTS の生命 (疾患) プロセスへ新たな作用点を明らかにし、CTS を標的にした治療・創薬の具体的なターゲットの発見を導くことが期待される。本研究で得られた知見を組み込んだ分子時計の仕組みを念頭においた病態の時間制御システムの開発は、様々な疾患の時間治療にとっても大きな貢献をすると期待される。

3. 研究の方法

本計画では：I) CK2 によるリン酸化が BMAL1 の日周性修飾 (acetyl 化、SUMO 化、ubiquitin 化) を閉鎖制御することを示すため、CK2 のノックダウンと BMAL1 リン酸化部位変異によって、BMAL1 の日周性修飾とそれに伴う調節過程が損なわれるかどうか調べる。II) CK2 サブユニットと時計蛋白質との結合の日周変化が活性振動をもたらすという作業仮説を検証する。I, II で得られた知見を土台にして、III) CK2 が制御する日周性シグナロソームの生理的意義として、p53 を介する癌抑制系における役割を検討する。IV) 蛋白質リン酸化オシレータへの入力系の 1 つとして熱ショック同調系における CK2 の役割を検討した。

4. 研究成果

本研究により、CK2 をコアとした日周性リン酸化オシレータの概日システム制御における統括的な役割を解明した。さらに CK2 活性の日周期変動機構に時計制御蛋白質との周期的相互作用が関与していることを発見した (投稿準備中)。熱ショック刺激 (PLoS ONE 2011)、癌などの様々な疾患のプロセスに関与する活性酸素による細胞死を起こす手前の臨界条件の酸化ストレス刺激により、概日リズム同調が起き、ストレスに対する細胞の生存の為にシグナリングに CK2 が統合する概日システムと熱ショック応答系、抗アポトーシス系、抗酸化系が構成するシグナロソーム関与していることを解明した (PLoS ONE 2013)。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

原著論文

Tamaru T, Hattori M, Ninomiya Y, Kawamura G, Varès G, Honda K, Mishra DP, Wang B, Benjamin I, Ozawa T, Takamatsu K: ROS stress resets circadian clocks to coordinate pro-survival signals. PLoS One 8: e82006, 2013 査読あり
DOI: 10.1371/journal.pone.0082006

Tamaru T, Hattori M, Honda K, Benjamin I, Ozawa T, Takamatsu K: Synchronization of circadian Per2 rhythms and HSF1-BMAL1:CLOCK interaction in mouse fibroblasts after short-term heat shock pulse. PLoS One 6: e24521, 2011 査読あり
DOI: 10.1371/journal.pone.0024521

総説・その他

田丸輝也: 周期性の生命科学 - 時計分子医療に向けて「日周性シグナルによる生理機能制御」. 東邦医学会誌 60: 289-291, 2013 査読なし

田丸輝也, 池田正明: シンポジウム 63 「時間分子医療に向けたサーカディアンシグナロソームの解明~クロノバイオシグナルを捉える」オーガナイザー序文. 日生誌 75(5): 「Symposia」欄 p247, 2013 査読なし

田丸輝也: シンポジウム 63「CK2 を中核としたサーカディアンシグナロソームによる体内時計制御」発表概要. 日生誌 75(5): 「Symposia」欄 (WEB) p41, 2013 査読なし

[学会発表](計 13 件)

招待講演

Tamaru T: Circadian phosphorylation signal regulates mammalian circadian system. Invited lecture of INDIA-JAPAN COOPERATIVE SCIENCE PROGRAM (Organizer of Japanese side) jointly sponsored by JSPS (Japan) and DST (India), Univ. Tokyo, Sch. Science, 2012年11月27日

Tamaru T: Role of periodic phosphorylation signal in mammalian circadian system. Invited lecture of INDIA-JAPAN COOPERATIVE SCIENCE PROGRAM (Organizer of Japanese side) jointly sponsored by

JSPS (Japan) and DST (India), Central Drug Research Institute, Lucknow, India, 2011年12月20日

講演(シンポジウム・ワークショップ等)

田丸輝也: 活性酸素ストレスにตอบสนองする概日時計リセットシグナルは細胞生存プログラムを制御する. 第91回日本生理学会大会(オーガナイザー兼任), 鹿児島, 2014年3月16日

Ninomiya Y, Tamaru T, Varès G, Wang B, Neno M: Mechanism study on the role of circadian adaptive system and senescence in radiosensitivity. 6th International Systems Radiobiology Workshop, Chiba, 2014年3月6日

田丸輝也, 服部満, 二宮康晴, 河村玄気, 小澤岳昌, 高松 研: 時計リセットシグナルによる ROS ストレス応答系の制御. 第20回日本時間生物学会学術大会, 大阪, 2013年11月9日

田丸輝也: 日周性シグナルによる生理機能制御. 第142回東邦医学会例会, 東京, 2013年6月14日

田丸輝也: CK2 を中核としたサーカディアンシグナロソームによる体内時計制御. 第90回日本生理学会大会(オーガナイザー兼任), 東京, 2013年3月29日

田丸輝也, 服部満, 小澤岳昌, 高松 研: ヒートショック応答系による概日リズムのリセット. 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012年12月14日

田丸輝也, 服部満, 小澤岳昌, 高松 研: 概日リン酸化オシレータによる翻訳後修飾系の統合制御. 第19回日本時間生物学会学術大会, 札幌, 2012年9月15日

一般発表(国際)

Tamaru T: Circadian adaptive signaling integrally controls stress-responsive pathways. XIII EBRS (European Biological Rhythms Society) congress, Munich, Germany, 2013年8月18日~22日

一般発表(国内)

河村玄気, 服部満, 田丸輝也, 小澤岳昌: Elucidation of molecular mechanism underlying synchronization of circadian clock by UV light irradiation. 日本化学会第94春季年会, 名古屋, 2014年3月27日

田丸輝也, 服部満, 二宮康晴, 河村玄気,
小澤岳昌, 高松 研: 生死の臨界となる活
性酸素ストレスは概日時計をリセットす
る. 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸,
2013 年 12 月 5 日

田丸輝也, 眞野容子: 概日性細胞内シグ
ナルとストレス応答システムのクロスト
ーク. 第 141 回東邦医学会例会, 東京,
2013 年 2 月 8 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田丸 輝也 (TAMARU, Teruya)
東邦大学・医学部・講師
研究者番号: 80291706

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし