

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25293080

研究課題名(和文) 小胞体ストレス応答因子ATF6 による生体機能制御とその破綻による疾患発症の解明

研究課題名(英文) Physiological and pathological role of the endoplasmic reticulum stress transducer protein ATF6beta

研究代表者

親泊 政一 (OYADOMARI, Seiichi)

徳島大学・先端酵素学研究所(プロテオ)・教授

研究者番号：90502534

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：生体は、小胞体でのタンパク質の折り畳み障害(小胞体ストレス)に適応する小胞体ストレス応答を持ち、ATF6はその応答の中心的役割を果たしている。ATF6には染色体上の異なる遺伝子座にATF6とATF6があり、ATF6でなくATF6がタンパク質の折り畳みに重要であるとこれまでに報告されている。本研究では、ATF6ノックアウトマウスを用いた解析からATF6が軟骨分化や大腸炎発症などに関与することを見出した。このことから、小胞体タンパク質の品質管理には直接的には関連しない代謝、免疫といった生体機能を制御する非古典的な小胞体ストレス応答が存在すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The living organisms have a response against unfolded proteins in the endoplasmic reticulum (ER), the so-called UPR. ATF6 is a main regulator of the UPR. Mammalian cells have two genes that encode ATF6 (ATF6 and ATF6) at different loci on the chromosome, and it has been reported that ATF6, not ATF6, is important for protein folding. In this study, we found that ATF6 is important for cartilage differentiation and colitis development from analysis using ATF6 knockout mouse. Thus, the UPR signaling pathway can control biological functions such as metabolism and immunity beside maintaining ER protein homeostasis.

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子病態学 小胞体ストレス ATF6

1. 研究開始当初の背景

生体は、小胞体でのタンパク質の折り畳み障害（小胞体ストレス）に適応する小胞体ストレス応答を持ち、その破綻は疾患を発症させる。従来知られてきた小胞体タンパク質の品質管理に必要な遺伝子誘導（古典的小胞体ストレス応答）には直接関連しない代謝、免疫といった生体機能を制御する非古典的小胞体ストレス応答の存在が最近明らかになり、その制御機構も含めて注目されている。ATF6には相同性の高い ATF6 と ATF6 があるが、連携研究者の森らにより ATF6 でなく、ATF6 が古典的小胞体に必須であることをわかった（*Dev. Cell* (2007) 13:365-76）。ATF6 は古典的小胞体ストレス応答には必須でないのにも関わらず、ATF6 KO マウスは体が小さいので、ATF6 は非古典的小胞体ストレス応答に重要なことが示唆されるが、これまでにそのような観点からの研究は、皆無であった。

2. 研究の目的

本研究では、小胞体ストレス応答を制御する転写因子である ATF6 に焦点を絞り、非古典的小胞体ストレス応答での生体機能制御とその破綻による疾患発症を解明して、先端医療開発の基盤形成を目指す。具体的には、申請者のみが持つ ATF6 と ATF6 ノックアウトマウスの比較解析から、以下の点を明らかにすることを目的とした。

- (1) ATF6 の軟骨分化における生理的意義と大腸炎発症における病的意義の解明
- (2) ATF6 による遺伝子発現ネットワークの全容とその制御の分子機構の解明

3. 研究の方法

ATF6 と ATF6 の KO マウスを用いて、以下に示す個体レベルでの生理学的・組織学的解析に、細胞レベルでの生化学的・分子生物学的解析を統合して、ATF6 の役割の包括的理解を目指した。

- (1) ATF6 KO と ATF6 KO マウスを用いた軟骨細胞分化における生理的な意義の検討解析
- (2) ATF6 KO と ATF6 KO マウスを用いた DSS 大腸炎発症における病的意義の検討
- (3) マイクロアレイを用いた網羅的解

析による ATF6 による遺伝子発現制御機構の解明

- (4) 次世代シーケンサーを用いた ChIP-Seq による ATF6 の DNA 結合配列の同定

4. 研究成果

ATF6には相同性の高い ATF6 と ATF6 があるが、ATF6 でなく ATF6 が小胞体タンパク質の品質管理に必要な遺伝子誘導に必須であることがすでに知られていた。ところが ATF6 ノックアウトマウスの解析から、ATF6 は小胞体タンパク質の品質管理に必要な遺伝子誘導には必須でないのにも関わらず、ATF6 KO マウスよりも ATF6 KO マウスは軟骨細胞分化が遅延したり、DSS誘導性の大腸炎が重篤化することを見出すことができた。また、軟骨細胞へと分化することができる ATDC 5 細胞あるいは初代マウス線維芽細胞に ATF6 と ATF6 を過剰発現あるいはノックダウンして、軟骨細胞への分化への影響をそれぞれ解析し、ATF6 の軟骨分化への関与を明らかにした。

本研究成果に置いては、現在、論文発表するため、まとめている。

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 13 件)

1. Handa K, Inukai K, Onuma H, Kudo A, Nakagawa F, Tsugawa K, Kitahara A, Moriya R, Takahashi K, Sumitani Y, Hosaka T, Kawakami H, Oyadomari S, Ishida. 査読有, 11, 2016, e0155751, DOI: 10.1371/journal.pone.015575
2. Mitsui SN, Yasue A, Masuda K, Naruto T, Minegishi Y, Oyadomari S, Noji S, Imoto I, Tanaka E. Novel human mutation and crispr/cas genome edited mice reveal the importance of c terminal domain of msx1 in tooth and palate development. *Sci Rep* 査読有, 6, 2016, 38398 DOI: 10.1038/srep38398
3. Taniuchi S, Miyake M, Tsugawa K, Oyadomari M, Oyadomari S. Integrated stress response of vertebrates is regulated by four eif2 kineses. *Sci Rep* 査読有, 6, 2016, 32886 DOI: 10.1038/srep32886
4. Lu W, Hagiwara D, Morishita Y, Tochiya M, Azuma Y, Suga H, Goto M, Banno R, Sugimura Y, Oyadomari S, Mori K, Arima H. Unfolded protein response in hypothalamic cultures of wild-type and ATF6 -knockout mice.

- Neurotic Lett. 査読有, 612, 2016, 199-203
DOI:10.1016/j.neulet.2015.12.031
5. Miyake M, Nomura A, Ogura A, Takehana K, Kitahara Y, Takahara K, Tsugawa K, Miyamoto C, Miura N, Sato R, Kurahashi K, Harding HP, Oyadomari S, Ron D, Oyadomari S Skeletal muscle-specific eukaryotic translation initiation factor 2 phosphorylation controls amino acid metabolism and fibroblast growth factor 21-mediated non-cell-autonomous energy metabolism
FASEB J. 査読有, 30, 2016, 798-812
DOI : 10.1096/fj.15-275990
 6. Kozuka C, Sunagawa S, Ueda R, Higa M, Tanaka H, Shimizu-Okabe C, Ishiuchi S, Takayama C, Matsushita M, Tsutsui M, Miyazaki JI, Oyadomari S, Shimabukuro M, Masuzaki H
Gamma-oryzanol protects pancreatic -cells against endoplasmic reticulum stress in male mice.
Endocrinology, 査読有, 156, 2015 1242-1250, DOI : 10.1210/en.2014-1748
 7. Kozuka C, Sunagawa S, Ueda R, Higa M, Ohshiro Y, Tanaka H, Shimizu-Okabe C, Takayama C, Matsushita M, Tsutsui M, Ishiuchi S, Nakata M, Yada T, Miyazaki JI, Oyadomari S, Shimabukuro M, Masuzaki H
A novel insulinotropic mechanism of whole grain-derived -oryzanol via the suppression of local dopamine D2 receptor signalling in mouse islet
Br J Pharmacol. 査読有, 172 4519-4534, 2015 DOI : 10.1111/bph.13236
 8. Shikama Y, Aki N, Hata A, Nishimura M, Oyadomari S, Funaki M
Palmitate-stimulated monocytes induce adhesion molecule expression in endothelial cells via IL-1 signaling pathway J Cell Physiol 査読有, 230, 2015, 732-742, Doi: 10.1002/jcp.24797
 9. Azuma Y, Hagiwara D, Lu W, Suga H, Goto M, Banno R, Sugimura Y, Oyadomari S, Mori K, Shiota A, Asai N, Takahashi M, Oiso Y, Arima H
Activating Transcription Factor 6 Is Required for the Vasopressin Neuron System to Maintain Water Balance under Dehydration in Male Mice. Endocrinology 査読有, 155, 2014, 4905-4914
Doi:10.1210/en.2014-1522.
 10. Handa K, Inukai K, Onuma H, Kudo A, Nakagawa F, Tsugawa K, Kitahara A, Moriya R, Takahashi K, Sumitani Y, Hosaka T, Kawakami H, Oyadomari S, Ishida H
Long-term low carbohydrate diet leads to deleterious metabolic manifestations in diabetic mice.
PLoS One 9, 査読有, 2014 29;9(8):e104948.
Doi: 10.1371/journal.pone.0104948.
 11. Yasue A, Mitsui SN, Watanabe T, Sakuma T, Oyadomari S, Yamamoto T, Noji S, Mito T, Tanaka E
Highly efficient targeted mutagenesis in one-cell mouse embryos mediated by the TALEN and CRISPR/Cas systems.
Sci Rep 査読有, 4, 2014 5705
Doi: 10.1038/srep05705
 12. Uehara Y, Hirose J, Yamabe S, Okamoto N, Okada T, Oyadomari S, Mizuta H
Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis contributes to articular cartilage degeneration via C/EBP homologous protein.
Osteoarthritis Cartilage, 査読有, 22, 2014, 1007-1017,
Doi: 10.1016/j.joca.2014.04.025
 13. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E, Ohtani N.
Obesity induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome
Nature 査読有, 499, 2013, 97-101
DOI: 10.1038/nature12347

[学会発表](計 32 件)

1. 張 君,三宅雅人,倉橋 清衛,宮本千伸,津川和江,尾野雅哉,親泊美帆,親泊政一
高血糖に伴うIRE1のO GlcNAc修飾は小胞体ストレス応答を減弱させる
第28回 分子糖尿病学シンポジウム
2016/12/03 タワー111(富山県・富山市)
2. 張 君,三宅雅人,津川和江,宮本千伸,親泊政一
小胞体シグナルを介した母体栄養に起因する胎仔肝のエピゲノム修飾の解明
第11回 臨床ストレス応答学会大会
2016/11/12 山口大学(山口県・宇部市)
3. 三宅雅人,親泊政一
脂肪細胞におけるPERK経路を起点とした細胞間相互作用による細胞死の誘導
第11回 小胞体ストレス研究会
2016/10/10 岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県・岐阜市)
4. 張 君,三宅雅人,津川和江,宮本千伸,親泊政一
UPR欠損マウス胎児線維芽細胞は小胞体からのCa²⁺放出を介してアポトーシスを誘導する
第11回 小胞体ストレス研究会
2016/10/10 岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県・岐阜市)
5. 三宅雅人,張 君,倉橋 清衛,宮本千伸,津川和江,親泊美帆,親泊政一
脂肪細胞での小胞体ストレスなどで活性化されるeIF2 リン酸シグナルによる肥満抑制作用
第89回 日本生化学会大会 2016/9/26
仙台国際センター(宮城県・仙台市)
6. 三宅雅人,高原一菜,張君,倉橋清衛,宮本千伸,津川和江,親泊美帆,親泊政一
ATF6 での肥満・糖尿病における役割の解明 第59回 日本糖尿病学会年次学術集 2016/5/20 国立京都国際会館(京都府・京都市)
7. 三宅雅人,倉橋清衛,森 智子,宮本千伸,津川和江,三浦恭子,北原吉朗,親泊政一
小胞体ストレスを減弱させ膵 細胞でのインスリン合成を促進する新規化合物の同定
第 27 回分子糖尿病学シンポジウム
2015/12/5 丸ビルホール&コンファレンススクエア(東京都・千代田区)
8. 谷内秀輔,三宅雅人,津川和江,親泊美帆,親泊政一
CRISPR/Cas9 システムを用いた統合的ストレス応答を制御する eIF2 キナーゼの検証
BMB2015(第 38 回分子生物学会年会・第 88 回生化学会年会合同大会) 2015/12/3
神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)
9. 山川哲生,小倉 淳,三宅雅人,宮本千伸,津川和江,親泊美帆,親泊政一
PERK 経路の下流因子によって制御される癌細胞増殖機構について
BMB2015(第 38 回分子生物学会年会・第 88 回生化学会年会合同大会) 2015/12/2
神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)
10. 張 君,三宅雅人,倉橋清衛,津川和江,宮本千伸,親泊美帆,親泊政一
CRISPR/Cas9 を用いた小胞体ストレス応答伝達タンパク質の検証
BMB2015(第 38 回分子生物学会年会第 88 回生化学会年会合同大会) 2015/12/2
神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)
11. 三宅雅人,張 君,志内哲也,倉橋清衛,宮本千伸,津川和江,親泊美帆,親泊政一
小胞体ストレスなどで活性化される eIF2 リン酸化シグナルによる摂食調節を介した肥満抑制作用
BMB2015(第 38 回分子生物学会年会・第 88 回生化学会年会合同大会) 2015/12/2
神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)
12. 谷内秀輔,三宅雅人,津川和江,親泊美帆,親泊政一
CRISPR/Cas9 を用いた統合的ストレス応答に關与する eIF2 キナーゼの解析
第 10 回小胞体ストレス研究会
2015/11/29 淡路夢舞台国際会議場(兵庫県・淡路市)
13. 森本雅俊,久永 哲,張 君,谷内秀輔,山川哲生,三宅雅人,西良浩一,親泊政一
ATF6 の骨形成における役割

- 第 10 回小胞体ストレス研究会
2015/11/29 淡路夢舞台国際会議場
(兵庫県・淡路市)
14. 三宅雅人, 高原一菜, 森本 雅俊, 倉橋清衛, 親泊政一
ATF6 の肥満・糖尿病における役割
第 10 回小胞体ストレス研究会
2015/11/29 淡路夢舞台国際会議場
(兵庫県・淡路市)
15. 三宅雅人, 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸, 津川和江, 三浦恭子, 北原吉朗, 親泊美帆, 親泊政一
小胞体ストレスを標的とした膵 細胞でのインスリン生合成を促進する新規化合物の同定
第 10 回臨床ストレス応答学会大会
2015/11/6 東京農工大学(東京都・小金井市)
16. KIYOE KURAHASHI, TOMOKO MORI, CHINOBU MIYAMOTO, KAZUE TSUGAWA, MIHO OYADOMARI, KAZUNA TAKAHARA, CHIZUKO KIMURA, MASATO MIYAKE, TOSHIO MATSUMOTO, SEIICHI OYADOMARI
Saturated Fatty Acids Predominantly Activate PERK Pathway via Altered Composition of the Endoplasmic Reticulum Membrane, and Reduce Insulin Secretion in Pancreatic Cell by Translation Attenuation
75th ADA Scientific Sessions
2015/6/7 Boston(USA)
17. 三宅雅人, 張 君, 倉橋清衛, 宮本千伸, 津川和江, 親泊美帆, 親泊政一
小胞体ストレスなどで活性化される eIF2 リン酸化シグナルによる摂食調節を介した肥満抑制作用
第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会
2015/5/21 海峡メッセ下関 (山口県・下関市)
18. 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸, 津川和江, 三浦直子, 親泊美帆, 野村明利, 高原一菜, 佐藤亮祐, 山下裕紀子, 木村千寿子, 三宅雅人, 松本俊夫, 親泊政一
膵 細胞での脂肪毒性における小胞体ストレス応答の役割の解明
第 58 回日本糖尿病学会年次学術会
- 2015/5/21 海峡メッセ下関 (山口県・下関市)
19. 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸, 津川和江, 親泊美帆, 高原一菜, 佐藤亮祐, 木村千寿子, 三宅雅人, 松本俊夫, 親泊政一
飽和脂肪酸は膵 細胞の小胞体膜の組成を変化させ、PERK 経路の活性化による翻訳抑制を介してインスリン分泌を低下させる
第 26 回分子糖病学シンポジウム
2014/12/06 高知市文化プラザかるぽーと (高知県・高知市)
20. 三宅雅人, 倉橋清衛, 張 君, 津川和江, 宮本千伸, 親泊美帆, 親泊政一
肥満に伴う脂肪組織での慢性炎症の増悪プロセスへの小胞体ストレス応答経路の関与
第 37 回日本分子生物学会年会
2014/11/26 パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
21. 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸, 津川和江, 親泊美帆, 高原一菜, 佐藤亮祐, 木村千寿子, 三宅雅人, 松本俊夫, 親泊政一
飽和脂肪酸は膵 細胞の小胞体膜の組成を変化させ、PERK 経路の活性化による翻訳抑制を介してインスリン分泌を低下させる
第 9 回臨床ストレス応答学会大会
2014/11/01 岡山大学 (岡山県・岡山市)
22. 張 君, 三宅雅人, 津川和江, 親泊政一
CRISPR/Cas9 を用いた小胞体ストレス応答伝達タンパク質の検証
第 9 回臨床ストレス応答学会大会
2014/11/01 岡山大学(岡山県・岡山市)
23. 谷内秀輔, 三宅雅人, 津川和江, 親泊政一
Integrated Stress Response を担う第 5 の eIF2 キナーゼが存在する可能性の CRISPR/Cas9 のシステムを用いた検証
第 9 回臨床ストレス応答学会大会
2014/11/01 岡山大学(岡山県・岡山市)
24. 親泊政一
小胞体ストレス応答ネットワーク：細胞シグナルクロストークの新展開
第 87 回 日本生化学会大会 2014/10/17
国立京都国際会館 (京都府・京都市)
25. 張 君, 三宅雅人, 親泊政一
ゲノム編集技術を用いた小胞体ストレス

- 応答の解析
第 9 回小胞体ストレス研究会
2014/7/4 徳島大学(徳島県・徳島市)
- 26 谷内秀輔, 三宅雅人, 親泊政一
ゲノム編集技術を用いたIntegrated
Stress Response(ISR)の解析
第 9 回小胞体ストレス研究会
2014/7/4 徳島大学(徳島県・徳島市)
- 27 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸, 津川和江,
親泊美帆, 高原一菜, 佐藤亮祐, 木村
千寿子, 三宅雅人, 松本俊夫, 親泊政一
飽和脂肪酸による膵細胞の小胞体膜の組成変化は、PERK 経路活性化を遷延させ翻訳抑制を介してインスリン分泌を低下させる第 9 回小胞体ストレス研究会
2014/7/4 徳島大学(徳島県・徳島市)
- 28 佐藤亮祐, 三宅雅人, 松尾 顕, 張 君,
谷内秀輔, 倉橋清衛, 久永 哲, 西良浩一,
親泊政一
軟骨分化における ATF6 の役割
第 9 回小胞体ストレス研究会
2014/7/4 徳島大学(徳島県・徳島市)
- 29 三宅雅人, 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸,
津川和江, 三浦恭子, 北原吉朗,
親泊美帆, 親泊政一
小胞体ストレス応答を制御する新規化合物によるインスリン生合成の促進
第 9 回小胞体ストレス研究会
2014/7/4 徳島大学(徳島県・徳島市)
- 30 親泊政一
小胞体ストレス応答による生体機能調節
日本睡眠学会第 39 回定期学術集会
2014/7/3 ホテルクレメント徳島(徳島県・徳島市)
- 31 親泊美帆, 三宅雅人, 森智子, 倉橋清衛,
宮本千伸, 津川和江, 三浦恭子, 北原吉朗,
親泊政一
小胞体ストレス応答を標的としたインスリン生合成を改善する新規化合物の同定
第 57 回日本糖尿病学会年次学術会
2014/5/23 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- 32 倉橋清衛, 森智子, 宮本千伸, 津川和江,
三浦直子, 親泊美帆, 野村明利, 高原一菜,
佐藤亮祐, 山下裕紀子, 木村千寿子, 三宅雅人,
松本俊夫, 親泊政一
飽和脂肪酸は膵細胞の小胞体膜の組成を変化させ、PERK 経路の活性化による翻訳抑制を介してインスリン分泌を低下させる
第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会
2014/5/22 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)
- 〔図書〕(計 1 件)
親泊政一, 三宅雅人 日本臨牀社
日本臨牀 増刊号 74 巻 増刊号 1 2016
年 671 (179-183)
- 〔その他〕
ホームページ等
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
親泊 政一 (OYADOMARI, Seiichi)
徳島大学・先端酵素学研究所(プロテオ)・教授
研究者番号: 90502534
- (2) 研究分担者
親泊 美帆 (OYADOMARI, Miho)
徳島大学・先端酵素学研究所(プロテオ)・特任助教
研究者番号: 00596158
- (3) 連携研究者
森 和俊 (MORI Kazutoshi)
京都大学・理学系研究科・教授
研究者番号: 70182194