

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18872

研究課題名(和文) ASKファミリーの生理的意義の解明 ―脂肪細胞を中心として

研究課題名(英文) Searching for novel physiological roles of ASK family proteins

研究代表者

服部 一輝 (HATTORI, KAZUKI)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教

研究者番号：40708575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：創薬を考える上で、標的となるタンパク質の詳細な動態を理解することは必須である。酸化ストレスに鋭敏に応答し、細胞死を制御することが広く知られるASK1であるが、その生理的意義の理解は未だ限られている。我々は本研究で以下の2点を明らかにした。(1) ASK1は褐色脂肪細胞の分化過程における遺伝子発現制御を担い、熱産生を制御する、(2) ASK1は細胞外の温度が低下した際に活性化し、フェロトーシスという類の細胞死を制御する。これら新たな知見は、代謝性疾患への介入や臓器保存法の改良において新たな示唆を与えるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is inevitable to discover molecular characteristics of one single molecule if you think it as a therapeutic target for some diseases. Our main target, ASK1, is an oxidative stress-responsive kinase, which mainly regulates cell death process. We hereby revealed the two novel functions of ASK1: (1) ASK1 regulates a specific subset of gene expression including thermo-producing protein, Ucp1, and contributes to thermogenesis in brown adipocytes. (2) Prolonged cold stress activates ASK1-p38 axis, which induces a type of cell death, ferroptosis. These findings provided novel insights to develop therapeutic methods targeting to ASK1, especially in the field of metabolic diseases and tissue preservation.

研究分野：生化学、分子生物学

キーワード：ASK1 褐色脂肪 Ucp1 フェロトーシス 低温ストレス

1. 研究開始当初の背景

我々は長年にわたり ASK1 の機能解析を行ってきた。20 年にもわたる解析の中で、様々な情報、ノウハウ、ツールが蓄積されており、これらは世界的視点からも我々の強みのひとつである。MAPKKK、MAPKK、MAPK の 3 段階により構成される MAP キナーゼ経路の中で、ASK1 を含む ASK ファミリーは MAPKKK に属する。様々な環境ストレスのゆらぎを感知することで ASK1 はその活性レベルを変化させ、多様なシグナルを伝達する。活性酸素種 (ROS) による活性化メカニズムの解析が最も進んでおり、その活性化依存的に細胞死を導くことも多くの報告により明らかとなっている。しかしながら、個体レベルでの ASK1 の機能に関する情報には依然乏しく、生理的意義の全貌が明らかになつたとはいえない。

2. 研究の目的

創薬ターゲットを探索する上では、いかにその分子基盤が確固たるものであるかという点が重要となる。いわゆる分子標的薬の創製においては、標的分子が "どこで"、"どのような機能を"、"どのようなメカニズム" で発揮しているかを理解することが必要不可欠である。今回我々は、ASK1 の新たな生理的意義を発掘するとともに、その活性制御機構の分子基盤を詳細に解析することを目的として研究を開始した。

3. 研究の方法

本研究は主に 2 通りのアプローチを用いて検討を行った。

第一には、組織発現分布に注目した解析である。ASK1 が高発現する組織を抽出し、ASK1 欠損マウス由来の組織を用いた DNA マイクロアレイなどを行うことで ASK1 の遺伝子発現レベルでの寄与を探る。続いて、初代培養細胞系などを用いることで、より詳細に ASK1 の機能解析を行うと共に、ASK1 欠損マウスを用いた個体レベルでの生理機能解析も併せて行う。その際、全身性の欠損マウスのみならず、組織特異的な欠損マウスを用いることで、より正確に ASK1 の機能を捉える。

第二には、多様な細胞レベルでのストレス応答を解析することで、ASK1 の新規機能を明らかにする。これまで ASK1 は主に酸化ストレス応答に重要であることが示されてきたが、温度、pH などといった細胞外環境変化応答における働きの大部分は不明である。そこで、ASK1 が応答し、機能を発揮する新たな環境ストレスを見出すとともに、その状況における ASK1 の詳細な分子機構の解明を目指す。

4. 研究成果

褐色脂肪組織における ASK1 の機能解析

まず我々は、ASK1 の組織発現分布を調べたところ、あらゆる組織において ASK1 の発現が認められることを明らかとした。その中でも特に、十分な発現が認められながらも全く機能解析が行われていない脂肪組織に注目することとした。

ASK1 欠損マウス由来の各種組織を用いた DNA マイクロアレイ解析を行ったところ、ASK1 欠損マウスの褐色脂肪組織において体熱産生に関わる遺伝子発現の低下が認められた。その中でも特に注目すべきは、熱産生の主な実体であると考えられる Ucp1 の発現低下が認められたことである。引き続き、初代培養褐色脂肪細胞を用いた検討を行ったところ、組織を用いた解析結果と同様に、ASK1 欠損細胞における Ucp1 の発現低下が確認された。すなわち、褐色脂肪細胞内の ASK1 は Ucp1 の発現に必要であることが確認された。

さらに ASK1 依存的な遺伝子発現制御の意義を捉えるべく、初代培養褐色脂肪細胞の熱産生能を熱プローブを用いることで測定した。その結果、Ucp1 の発現が低い ASK1 欠損細胞においては、熱産生能が低下していることが明らかとなった。この他にも、脂肪組織特異的な ASK1 欠損マウスを用いた解析から、マウス個体のエネルギー代謝調節に対する ASK1 の重要性も見出している。

以上より、ASK1 が褐色脂肪細胞内の熱産生関連因子の発現制御を介して、熱産生やエネルギー代謝を制御していることを新たに見出すことに成功した。

低温刺激下、ASK1 による細胞死の制御

これまでに我々は、細胞外の温度変化に応答して ASK1 ファミリーがその活性を変化させることを示唆する予備実験結果を得ていた。この事実を基盤として、より詳細な検討を行ったところ、8°C の低温刺激に長時間細胞を晒すと ASK1-p38 経路が顕著に活性化することを見出した。この低温刺激を長時間続けると、細胞内構成要素の細胞外への放出を伴うネクローシス様の細胞死が導かれることが明らかになった。さらには、ASK1 の発現抑制や p38 の活性抑制がこの細胞死を抑制することから、低温ストレス依存的に ASK1-p38 経路が活性化され、細胞死を導くことが明らかとなった。

近年様々な種類の細胞死が提唱され、それぞれの細胞死と特異的な疾患との関連性が示されていることから、細胞死の細分化の重要性が示唆されている。それぞれの細胞死を特異的に阻害することができる阻害剤を用いた検討から、低温ストレス依存的な細胞死は「フェロトシス」という種類の細胞死であることが明らかとなった。

さらには、古典的フェロトシスを誘導することが知られている化合物を処置した際

に観察される細胞死に関しても、一部 ASK1-p38 経路の関与が明らかになったことより、フェロトーシスを制御する新たな分子メカニズムとして ASK1-p38 経路を提唱するに至った。

以上、本研究により、低温ストレスによってフェロトーシスが引き起こされること、また、フェロトーシスシグナルを ASK1-p38 経路が制御していることを明らかにした。

通常、我々の細胞が 8°C 程度の低温ストレスに長時間曝されることは考えにくい。ただ、臓器移植に伴う臓器保存の際には、氷上などの低温環境下に細胞が曝されることがある。その際の細胞障害は臓器の長期保存を妨げる重大な要素である。ASK1-p38 経路を介したフェロトーシス経路が低温下の細胞障害に寄与することが本研究より明らかになったため、本経路を阻害することが低温下での組織保存環境の向上に繋がる可能性が考えられる。

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6件)

原著論文

Hattori, K., Naguro, I., Okabe, K., Funatsu, T., Furutani, S., Takeda, K. and Ichijo, H.*

ASK1 signaling regulates brown and beige adipocyte function

Nat. Commun., 7, 11158 (2016)

Hattori, K.[†], Ishikawa, H.[†], Sakauchi, C., Takayanagi, S., Naguro, I., Ichijo, H.*

Cold stress-induced ferroptosis involves the ASK1-p38 pathway

EMBO reports, 18, 2067-2078 (2017)

Imamura, K., Yoshitane, H.*, Hattori, K., Yamaguchi, M., Yoshida, K., Okubo, T., Naguro, I., Ichijo, H., Fukada, Y.*

ASK family kinases mediate cellular stress and redox signaling to circadian clock

PNAS, 115, 3646-3651 (2018)

総説

Sakauchi, C., Wakatsuki, H., Ichijo, H.*, and

Hattori, K.

Pleiotropic properties of ASK1

Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General

Subjects 1861, 3030-3038 (2017)

Nishida, T., Hattori, K.*, and Watanabe, K.*

The regulatory and signaling mechanisms of the ASK family

Advances in Biological Regulation, 66, 2-22 (2017)

Hattori, K., and Ichijo, H.*

Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 in Regulated Necrosis

Cell Cycle, 17(1), 5-6 (2017)

[学会発表](計21件)

*国際学会のみを記す

Hattori, K. and Ichijo, H.

Cold stress evokes ferroptosis through ASK1-p38 axis

Keystone Symposia: Cell Death, Inflammation and Adaptation to ~~Natu~~ Stress, Colorado (2016)

States of America, January 21-25, 2018

Hattori, K., Wakatsuki, H. and Ichijo, H.

ASK1 signaling regulates brown adipocyte function

Cell Symposia-Exercise Metabolism, Gothenburg, Sweden, May 21-23, 2017

Hattori, K., Wakatsuki, H., Naguro, I. and Ichijo, H.

ASK1 signaling regulates brown adipocyte maturation

Keystone Symposia-Kinases: Next-Generation Insights and Approaches, Colorado, United States of America, March 6-9, 2017

Sakauchi, C., Takayanagi, S., **Hattori, K.** and Ichijo, H.

The mechanism of PKA-dependent ASK1 activation leading to adipocyte maturation

Keystone Symposia-Kinases: Next-Generation Insights and Approaches, Colorado, United States of America, March 6-9, 2017

Sakauchi, C., **Hattori, K.** and Ichijo, H.

The mechanism of PKA-dependent ASK1 activation leading to adipocyte maturation

The 9th Japan-Korea Conference on Cellular Signalling for Young Scientists, Seoul, Korea, July 21-22, 2016

Hattori, K., Sakauchi, C., Naguro, I. and Ichijo, H.

ASK1-p38 axis regulates cold stress-induced cell death

Gordon Research Conference-Cell Death, Girona, Spain, July 3-8, 2016

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

服部 一輝 (Hattori, Kazuki)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・

助教

研究者番号: 40708575

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし