

## 自己評価報告書

平成23年 4 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2008 ~ 2012

課題番号：20229004

研究課題名 (和文) ストレスシグナルの分子機構解明による創薬基盤の確立

研究課題名 (英文) Establishment of the basis for drug development by the analysis of molecular mechanisms of stress signaling

研究代表者

一條 秀憲 (ICHIJO HIDENORI)

東京大学・大学院薬学系研究科・教授

研究者番号：00242206

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：ストレス, ASK ファミリー

## 1. 研究計画の概要

ストレス応答は、細胞が持つ最も基本的な生命現象のひとつであり、その破綻は、炎症、がん、神経変性、自己免疫などをはじめとする多様な疾患の発症原因となる。シグナル伝達分子の多くは、ホルモンやサイトカインなどの生理活性物質のみならず物理化学的ストレスによってもその活性が制御されるが、ストレスセンサーの実体ならびにタンパク質によるストレス認識の構造的ならびに時空間的分子基盤については不明な点が多く残されている。本研究は、ストレス応答性 ASK ファミリーキナーゼならびにその活性制御タンパク質群の機能解析を中心テーマとして推進し、酸化ストレス、小胞体ストレス、浸透圧ストレスなどの物理化学的ストレスが如何にしてリン酸化シグナルに変換され、またストレスシグナルが如何にして細胞機能を司るかという、基本的な生命現象の分子の実体の解明を目指す。その特徴は、研究代表者が世界に先駆けて明らかにしてきた ASK ファミリーとその活性制御タンパク質群を標的とし、最先端のシグナル伝達解析技術を用いて研究を進めることにある。また、ASK ファミリー阻害剤等の基盤開発も視野に入れ、ストレスの受容・認識・変換の分子機構の解明ならびにストレスシグナルと疾患との関わりを解明する事を目的としている。

## 2. 研究の進捗状況

ストレス応答は、細胞が持つ最も基本的な生命現象のひとつであり、その破綻は、炎症、がん、神経変性、自己免疫などをはじめとする多様な疾患の発症原因となる。シグナル伝達分子の多くは、ホルモンやサイトカインなどの生理活性物質のみならず物理化学的ストレスによってもその活性が制御されるが、ストレスセンサーの実体なら

びにタンパク質によるストレス認識の構造的ならびに時空間的分子基盤については不明な点が多く残されている。本研究は、ストレス応答性キナーゼならびにフォスファターゼの機能解析を中心テーマとして推進し、酸化ストレス、小胞体ストレス、浸透圧ストレスなどの物理化学的ストレスが如何にしてリン酸化シグナルに変換され、またストレスシグナルが如何にして細胞機能を司るかという、基本的な生命現象の分子の実体の解明を目指す。現在までに 1. MEKK2 活性の時間的制御におけるユビキチン-脱ユビキチン化の役割、2. 線虫ならびにショウジョウバエを用いた遺伝学的アプローチ (スクリーニング) による ASK ファミリーシグナルの解明、3. ASK ファミリーの発がん過程における役割、4. 新規脱リン酸化酵素 PGAM5 によるミトコンドリアストレス制御機構の解明、5. ASK3 による浸透圧ストレス応答機構の解明、に焦点を絞って研究を展開し、それぞれの項目について、ストレスシグナルの新しい制御機構の解明に進展がみられた。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) [ミトコンドリアストレスと PGAM5] : ASK1 の結合分子の一つとして我々の見いだした Phosphoglycerate mutase family member 5 (PGAM5) は、これまでに知られていない分子とも相同性を持たない、まったく新しいタイプのセリン・スレオニン特異的プロテインホスファターゼとしてミトコンドリアにおいて機能し、その活性依存的に ASK1 ならびにその下流の MAP キナーゼ経路を活性化することが明らかとなった。[ASK1 結合分子の探索と機能解析] : プルダウン-MASS 解析により、活性酸素刺激依存的な ASK1

結合分子および活性制御分子の網羅的探索(インタラクトーム解析)を行ったところ、新たに脱ユビキチン化酵素 USP9X ならびに抗酸化蛋白質ペルオキシレドキシシン1 (Prx1) を同定した。[自然免疫応答における ASK1 の機能解明]: マクロファージの外來異物の貪食能・消化能の定量的な評価系を新たに構築し、実際に ASK1 欠損細胞では貪食能・消化能が低下していることを見出した。[遺伝学的機能解析]線虫における ASK1 オルソログである NSY-1 の欠損個体は、酸化ストレス、小胞体ストレス、細菌感染に対して脆弱であることが分かり、これらのストレスに対して個体の生存を維持する上で NSY-1 が重要な役割を担うことを確認した。その後、より幅広いストレス刺激に対する NSY-1 欠損線虫の表現型を探索したところ、無酸素状態においてはむしろ生存が延長するという、これまでのストレス刺激とはまったく逆の表現型を NSY-1 欠損線虫が示すことが明らかとなった。

#### 4. 今後の研究の推進方策

1) ASK ファミリー結合分子群の機能解析、2) ノックアウトマウスを用いた ASK ファミリーシグナルの分子特異性解析、3) 遺伝学的解析法による ASK ファミリーシグナルの解析、4) 自然免疫応答における ASK ファミリーの機能解明、5) 小胞体ストレスにおける ASK ファミリーの役割の解明に焦点を当て、特に病態生理学的意義と創薬基盤という観点から、残りの期間を研究の仕上げと成果公表を意識しながら全うしたい。

#### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 39 件)

1. Maruyama, T., Kadowaki, H., Okamoto, N., Nagai, A., Naguro, I., Matsuzawa, A., Shibuya, H., Tanaka, K., Murata, S., Takeda, K., Nishitoh, H. and Ichijo H. CHIP-dependent termination of MEKK2 regulates temporal ERK activation required for proper hyperosmotic response. *EMBO J.*, 4, 2501-2514 (2010).
2. Nagai, H., Noguchi, T., Homma, K., Katagiri, K., Takeda, K., Matsuzawa, A. and Ichijo H. Ubiquitin-like sequence in ASK1 plays critical roles in the recognition and stabilization by USP9X and oxidative stress-induced cell death. *Mol. Cell.*, 36, 805-818 (2009).
3. Takeda, K., Komuro, Y., Hayakawa, T., Oguchi, H., Ishida, Y., Murakami, S., Noguchi, T., Kinoshita, H., Sekine, Y., Iemura, S., Natsume, T., and Ichijo H. Mitochondrial phosphoglycerate mutase 5 uses alternate catalytic activity as a

protein serine/ threonine phosphatase to activate ASK1.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 12301-12305 (2009).

4. Iriyama, T., Takeda, K., Nakamura, H., Morimoto, Y., Kuroiwa, T., Mizukami, J., Umeda, T., Noguchi, T., Naguro, I., Nishitoh, H., Saegusa, K., Tobiume, K., Homma, T., Shimada, Y., Tsuda, H., Aiko, S., Imoto, I., Inazawa, J., Chida, K., Kamei, Y., Kozuma, S., Taketani, Y., Matsuzawa, A. and Ichijo H. ASK1 and ASK2 differentially regulate the counteracting roles of apoptosis and inflammation in tumorigenesis. *EMBO J.*, 28, 843-853 (2009).
5. Nishitoh, H., Kadowaki, H., Nagai, A., Maruyama, T., Yokota, T., Fukutomi, H., Noguchi, T., Matsuzawa, A., Takeda, K. and Ichijo H. ALS-linked mutant SOD1 induces ER stress- and ASK1-dependent motor neuron death by targeting Derlin-1. *Genes Dev.*, 22, 1451-1464 (2008).

以上に加えて、計25報の英語原著論文、14報の英語総説を報告した。

[学会発表] (計 5 件)

- ① 一條秀憲, 武田弘資: ASK ファミリーを介したストレスシグナルによる発がん制御, 第 69 回日本癌学会学術総会 シンポジウム, 2010.9.22-24, 大阪.
- ② Hidenori Ichijo: ASK family signaling in Cancer and ALS, Biomedical Research Seminar LUMC (Liden University Medical Center), 2010.9.8, オランダ.
- ③ Hidenori Ichijo: ASK-dependent Stress Signaling in Cell Death, Inflammation and Disease, ISMC2010, 2010.9.5-9, ベルギー.
- ④ 一條秀憲: 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~, 第 29 回分子病理学研究会 招待講演, 2010.7.31, つくば.
- ⑤ 一條秀憲: 細胞がストレスを感じる仕組みと疾患, 第 64 回日本口腔科学会学術集会 シンポジウム, 2010.6.24-25, 札幌.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 筋萎縮性側索硬化症(ALS)の診断のための抗体

発明者: 西頭英起、一條秀憲

権利者: 東京大学

番号: 特願 2010-111375

出願年月日: 2010年5月13日

国内外の別: 国内