

平成23年 3月 1日現在

機関番号： 82401

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2009～2010

課題番号： 21790218

研究課題名(和文)

細胞の枠を超えて機能する新たな小胞体ストレス応答経路の発見

研究課題名(英文) Identification of novel ER stress responsive pathways that function in intercellular interaction

研究代表者

岩脇 隆夫 (IWAWAKI TAKAO)

独立行政法人理化学研究所・中野生体膜研究室・客員主管研究員

研究者番号： 50342754

研究成果の概要(和文)：

本研究は、これまで細胞内レベルで解析されてきた小胞体ストレス応答を細胞間シグナル伝達や動物個体のレベルで解析することにより、小胞体ストレス応答の新たな機能を発見することを目的とし、マウス生体内でのストレスイメージング技術や遺伝子破壊技術を用いて胎盤、唾液腺、膵臓で小胞体ストレス応答が重要な機能を担うことを明らかにした。特に胎盤における血管内皮成長因子の活性化に関するものは詳細に解析できた。

研究成果の概要(英文)：

Endoplasmic reticulum (ER) stress has actively been studied at the intracellular level so far. In this research, the purpose is to study the role of ER stress response at the intercellular level and in vivo level. By using in vivo stress imaging and gene targeting technologies, we found that ER stress responsive molecules are essential for the function of the placenta, the salivary gland, and the pancreas. Especially we performed detail investigation for activation of vascular endothelial growth factor in the placenta.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：小胞体ストレス、血管新生、胎盤、膵臓、糖尿病、唾液腺、タンパク質品質管理

## 1. 研究開始当初の背景

小胞体ストレスの研究は小胞体自体の機能からタンパク質の品質管理という側面から

解析されることが多く、ゆえに細胞レベルの研究が主流であった。しかし国内のあるグループが神経変性疾患と小胞体ストレスの関係を報告し、海外の別のグループが小胞体ストレス応答分子のノ

ックアウトマウスの簡単な表現型を発表していた。一方、我々のグループは小胞体ストレスを生体内でイメージングできる技術を開発していた。

## 2. 研究の目的

小胞体ストレス自体や小胞体ストレス応答の機能をタンパク質品質管理の側面からではなく、動物個体内の器官や組織の機能の面から解析し、これまで単一培養細胞レベルでは明らかにできなかった新たな役割を発見する。

## 3. 研究の方法

小胞体ストレスイメージング用マウスを用いて発生段階で生じる生理的小胞体ストレスの可視化とその後の通常生育で生じる生理的小胞体ストレスの可視化を行った。また病態モデルマウスにおいても小胞体ストレスイメージング解析を行った。

研究開始以前に作製済みであった小胞体ストレス関連遺伝子改変マウスを用いて上述のイメージング解析でシグナルを検出できた部位を中心に表現型解析を行った。

同じく上述のイメージング解析でシグナルを検出できた部位を中心にマイクロアレイ解析を行い、新たな小胞体ストレス応答遺伝子の発見を試みた。

## 4. 研究成果

マウスを用いた胎盤と唾液腺における生理条件下での小胞体ストレスの解析から、それぞれ IRE1alpha (小胞体ストレスセンサー分子) と ERdj5 (小胞体分子シャペロン) の生体機能の解明に迫った。得られた研究成果として IRE1alpha が胎盤で活性化状態にあり、その欠損では胎盤迷路部の血管形成不全をもたらすことを明らかにした。また IRE1alpha の欠損は胎盤の血管内皮成長因子 (VEGF) の発現低下も引き起こすことも示した。さらに条件的遺伝子破壊技術を用いて IRE1alpha 遺伝子破壊マウスの耐性致死性の原因が胎盤機能不全である可能性を発表した。ERdj5 遺伝子破壊マウスでは唾液腺の小胞体ストレス状態がわずかに悪化することを発見し、ERdj5 が唾液腺で主に産生されるアミラーゼの品質管理に貢献することも明らかにした。

IRE1alpha の新規標的分子のスクリーニング

では、胎盤で特異的に発現する CEA ファミリー遺伝子群の転写が IRE1alpha と XBP1 に依存することを明らかにした。また RNase として機能する IRE1alpha の基質 RNA も新たに 13 種類同定し、IRE1alpha が認識する RNA の配列および構造を見つけ出した。

また IRE1alpha の条件的破壊マウスを用いた膵臓と免疫機能における小胞体ストレス応答の生体機能解析では、IRE1alpha の欠損マウスは低体重、高血糖、低インスリン血漿の傾向を引き起こすことを明らかにし、膵臓ランゲルハンス島β細胞での重要性を示した。一方で、これら膵臓内分泌組織に対してだけでなく膵臓腺房組織 (消化酵素などの外分泌組織) に対しても重要な機能があるようで、IRE1alpha の欠損マウスでは膵臓腺房組織での海綿状病変が観察された。また抗体産生細胞である B 細胞においても IRE1alpha は重要な機能を有しており、その欠損マウスでは免疫グロブリンの産生能が低下することも明らかにした。

加えて IRE1alpha の新規標的分子の先とは異なるスクリーニングにも取り組み、8 つの新たな分子を発見し、IRE1alpha の標的 RNA 認識機構の一端を解明した。

熊本大学との共同研究では生体イメージング技術により末梢マクロファージにおける小胞体ストレスを捉えることに成功し、動脈硬化性血栓剥離にかかわる CHOP (小胞体ストレス性アポトーシス誘導因子) の機能解明に貢献した。

これらの研究を通じて、基礎的な細胞生物学の中だけではなく、医学的な側面でも小胞体ストレスを重要視できる貴重なデータを得た。

## 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 9 件)

- ① Takao Iwawaki, Ryoko Akai, and Kenji Kohno "IRE1alpha disruption causes histological abnormality of exocrine tissues, increase of blood glucose level, and decrease of serum immunoglobulin level." PLoS ONE, vol. 5, e13052 (1-11), 2010.
- ② Hirato Tsukano, Tomomi Gotoh, Motoyoshi Endo, Miyata Keishi, Hirokazu Tazume, Tsuyoshi Kadomatsu, Masato Yano, Takao Iwawaki, Kenji Kohno, Kimi Araki, Hiroshi Mizuta, Yuichi Oike "The endoplasmic reticulum stress-CHOP pathway-mediated apoptosis in macrophages contributes to

the instability of atherosclerotic plaques." *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 30, 1925-1932, 2010.

- ③ Daisuke Oikawa, Mio Tokuda, Akira Hosoda, and Takao Iwawaki "Identification of a consensus element recognized and cleaved by IRE1alpha." *Nucleic Acid Res.*, vol. 38, 6265-6273, 2010.
- ④ Daisuke Oikawa, Ryoko Akai, and Takao Iwawaki "Positive contribution of the IRE1alpha-XBP1 pathway to placental expression of CEA family genes." *FEBS Lett.*, vol. 584, 1066-1070, 2010.
- ⑤ Akira Hosoda, Mio Tokuda, Ryoko Akai, Kenji Kohno, and Takao Iwawaki "Positive contribution of Erdj5/JPDI to endoplasmic reticulum protein quality control in the salivary gland." *Biochem. J.*, vol. 425, 117-125, 2010.
- ⑥ Takao Iwawaki, Ryoko Akai, Shinya Yamanaka, and Kenji Kohno "Function of IRE1 alpha in the placenta is essential for placental development and embryonic viability." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 106, 16657-16662, 2009.

以上、全て査読あり

[学会発表] (計 13 件)

- ① 岩脇隆夫、細田章、赤井良子、徳田美緒 「血糖値調節およびインスリン生合成における小胞体ストレス応答の役割」第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会合同年会 (2010 年 12 月 10 日; 神戸)
- ② 藤岡洋美、土屋雄一、斉藤美知子、岩脇隆夫、森和俊、河野憲二 「膵臓β細胞でのインスリン産生における IRE1 と ATF6 の役割」第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会合同年会 (2010 年 12 月 10 日; 神戸)
- ③ 岩脇隆夫、細田章、赤井良子、徳田美緒 「血糖値調節およびインスリン生合成における小胞体ストレス応答の役割」第 5 回臨床ストレス応答学会 (2010 年 11 月 19 日; 徳島大)
- ④ Takao Iwawaki, Akira Hosoda, Ryoko Akai, and Mio Tokuda "The role of ER

stress responses in the control of blood glucose levels and the biosynthesis of insulin" The 3rd International Symposium on Protein Community (September 13, 2010 in Nara)

- ⑤ Daisuke Oikawa, Mio Tokuda, Akira Hosoda, and Takao Iwawaki "Genome-wide screening method for the cleavage target of IRE1alpha" The 32nd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (December 12, 2009 in Yokohama)
- ⑥ Akira Hosoda, Mio Tokuda, Ryoko Akai, Kenji Kohno, and Takao Iwawaki "Positive contribution of ERdj5/JPDI to endoplasmic reticulum protein quality control in the salivary gland" The 32nd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (December 12, 2009 in Yokohama)
- ⑦ Takao Iwawaki, Ryoko Akai, Shinya Yamanaka, and Kenji Kohno "Contribution of IRE1 signaling to placental angiogenesis and function for embryogenesis" The 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine (October 8, 2009 in Sapporo)
- ⑧ Ryoko Akai, Kenji Kohno and Takao Iwawaki "Phenotype analysis of IRE1 alpha conditional knockout mice" The 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine (October 8, 2009 in Sapporo)
- ⑨ Akira Hosoda, Mio Tokuda, Ryoko Akai, Kenji Kohno and Takao Iwawaki "Positive contribution of ERdj5/JPDI to endoplasmic reticulum protein quality control in the salivary gland" The 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine (October 8, 2009 in Sapporo)
- ⑩ Daisuke Oikawa, Ryoko Akai, and Takao Iwawaki "Contribution of IRE1alpha-XBP1 pathway to the placental expression of PSG genes" The 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, Poster Presentation, (October 8, 2009 in Sapporo)
- ⑪ 岩脇隆夫 「胎盤形成における小胞体ストレスセンサーとビタミン E の役割」エーザイ株式会社第 12 回 Vitamin E Update Forum (2009 年 8 月 31 日; 如水会館、東京)
- ⑫ 及川大輔、赤井良子、岩脇隆夫 「PSG 遺伝子

群の胎盤発現に対する IRE1a-XBP1 経路  
の貢献」第 61 回日本細胞生物学会 (2009  
年 6 月 4 日 ; 名古屋)

〔図書〕 (計 0 件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

なし

○取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.riken.jp/r-world/info/release/press/2009/090915/detail.html>

<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20090915/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩脇 隆夫 (IWAWAKI TAKAO)

独立行政法人理化学研究所・中野生体膜研究  
室・客員主管研究員

50342754

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし