

氏 名	まつ い とし え 松 居 利 江
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 126 号
学位授与の日付	平 成 19 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	哺乳動物小胞体ストレス応答を制御する転写因子ATF6とXBP1の作用 機作に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 根 岸 学 教 授 米 原 伸 教 授 垣 塚 彰
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

小胞体は新生膜タンパク質や分泌タンパク質の品質管理を行う細胞内小器官であり、小胞体内に構造異常タンパク質が蓄積する小胞体ストレスに対して様々な防御機構を備え持つ。この小胞体ストレス応答の1つに、小胞体シャペロンや小胞体関連分解構成分子を転写誘導して、タンパク質の折りたたみや分解を促進し、小胞体内環境を改善しようとする応答がある。この転写誘導機構は主に小胞体膜貫通タンパク質であるATF6とIRE1という2つのセンサー分子によって制御されている。構成的に発現しているATF6は小胞体ストレスに応答して膜貫通領域で切断され、細胞質側のpATF6(N)が転写因子として働く。IRE1は細胞質側にリボヌクレアーゼ領域を持つ分子であるが、どのように転写制御に関与しているのかは不明であった。著者の共同研究者である森研究室の吉田氏は、小胞体ストレスにより活性化したIRE1は、XBP1という転写因子をコードするmRNAを切断してスプライシングを引き起こし、活性型の転写因子pXBP1(S)の発現を誘導することを見いだした。そこで、筆者は2つの転写因子pATF6(N)とpXBP1(S)の小胞体ストレス応答における役割を明らかにするため、結合配列や転写標的遺伝子の解析に取り組み、以下に示す知見を得た。

- 1) pATF6(N)が結合するシス配列として、小胞体シャペロン遺伝子のプロモーター領域に存在するERSEと、ランダム合成したDNA配列の中からpATF6(N)が単独で結合する配列として単離されたATF6siteが知られていた。著者は、pXBP1(S)とpATF6(N)について、これらの配列に対する結合性を比較し、ERSEにはpATF6(N)とpXBP1(S)がともに結合するが、ATF6siteにはpXBP1(S)が強く結合し、pATF6(N)はほとんど結合しないことを明らかにした。IRE1のドミナントネガティブ体を発現するとATF6siteからの転写誘導が抑制されることから、以前はIRE1の下流でpATF6(N)が制御されていると考えられていたが、本研究によりIRE1-pXBP1(S)-ATF6site(UPREと改名)という転写活性化経路とシス配列の関係が明確となった。以上の結果より、pXBP1(S)はUPREを介して小胞体シャペロン以外の転写をも誘導し、pATF6(N)とは異なる役割を持つと考えられた。
- 2) pXBP1(S)を発現しないIRE1αノックアウト細胞では、小胞体関連分解構成分子の1つであるEDEMEの小胞体ストレス下における誘導が顕著に抑制されることから、EDEMEはpXBP1(S)により転写制御されると予想されていた。そこでtet-offシステムによりpATF6(N)とpXBP1(S)を小胞体ストレス非依存的に発現する細胞を用いて、EDEMEの転写誘導を検討した。tet-off pATF6α(N)細胞では、EDEMEは誘導されず、EDEMEの誘導にはやはりpXBP1(S)が機能していると考えられた。しかし、予想に反してtet-off pXBP1(S)細胞でもEDEMEはほとんど誘導されなかった。pXBP1(S)単独ではEDEMEを誘導せず、なんらかの活性化制御因子が必要である可能性が考えられた。そこでpXBP1(S)のリン酸化や結合タンパク質について解析を行い、小胞体ストレス下でpXBP1(S)はpATF6(N)と結合していることを見いだした。
- 3) pATF6(N)-pXBP1(S)ヘテロダイマーの転写活性化能について解析を行い、pATF6(N)-pXBP1(S)ヘテロダイマーはXBP1(S)ホモダイマーよりもUPREに対する親和性が高いこと、また効率的にEDEMEを転写誘導することを示唆

するデータを得た。

本研究では小胞体ストレスに応答して活性化される転写因子、pXBP1 (S) とpATF6 (N) の作用機作について詳細な解析を行い、IRE1-XBP1経路とATF6経路の2つの経路による、小胞体ストレス応答制御機構の一端を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究は、小胞体ストレスにより活性化される2つの転写因子ATF6とXBP1の作用機作を明らかにした研究である。ATF6やXBP1がホモあるいはヘテロのダイマーを形成することにより異なる標的遺伝子の転写誘導を実行することを示した。

小胞体内に高次構造の異常なタンパク質が蓄積する小胞体ストレス下では、小胞体から核へ情報が伝達され、小胞体シャペロンや小胞体関連分解構成因子の転写が誘導されて小胞体の恒常性が維持される。小胞体ストレスによって活性化される転写因子として同定されたATF6がERSEというシス配列を介してBiP等の小胞体シャペロンを転写誘導することが知られていたのに対し、新たに同定されたXBP1についてはほとんど不明であった。本研究により、XBP1はERSEだけでなくUPREと名付けた小胞体ストレス応答性のシス配列に結合すること、EDEM等の小胞体関連分解構成因子の転写誘導に必要であること、しかしEDEMの転写誘導には活性型XBP1の発現のみでは不十分であることが明らかになった。さらなる研究により、小胞体ストレス下ではATF6とXBP1がヘテロダイマーを形成しており、ATF6とXBP1のヘテロダイマーはATF6単独では結合できないUPREに結合し、EDEMの転写誘導を実行できることが明らかになった。

発現制御機構の違いから、小胞体ストレス下ではまず活性型のATF6が発現し、次いで活性型のXBP1が発現する。ATF6ホモダイマーの作用により転写誘導された小胞体シャペロンを介した異常タンパク質の巻き戻しから、ATF6とXBP1のヘテロダイマーの作用により転写誘導された小胞体関連分解構成因子を介した異常タンパク質の分解へと処理方法が転移して行く際の分子基盤が明らかとなり、小胞体ストレス応答の分子機構の解明に大きな寄与をするものであると考えられる。

よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、平成19年5月10日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。