

# 小胞体ストレスの原因タンパク質に応じて異なるストレスセンサーが活性化

## 概要

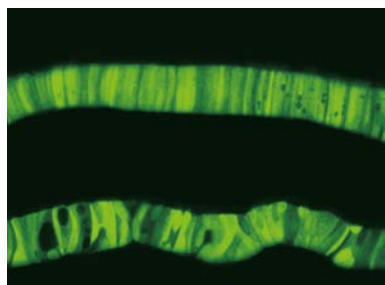
石川時郎 京都大学大学院理学研究科助教、森和俊 同教授らの研究グループは小胞体ストレスセンサー分子の生理的な役割を解析することによって、「様々な生命現象が成立するように裏から支える」小胞体ストレス応答の本質を示す成果を得て発表しました。

タンパク質がその機能を果たすためには、それぞれに固有の立体構造を形成し、それぞれが働く場所へと輸送されなければなりません。細胞間コミュニケーションに極めて重要な分泌タンパク質や膜タンパク質は細胞内小器官である小胞体内で、分子シャペロンからの介助を受けて折り置まれ、正しい立体構造を獲得した後、輸送小胞に取り込まれて細胞外・細胞表面へと輸送されて行きます。

小胞体では、分子シャペロンを介したタンパク質の品質管理が行われていますが、システムに綻びが生じて構造異常となったタンパク質が蓄積して小胞体ストレスが発生すると、小胞体ストレス応答が活性化され、恒常性が維持されます。小胞体ストレスの発生は小胞体ストレスセンサーが感知しますが、センサーの数は進化と共に増していき、小胞体ストレスに対する対応がより巧妙になっています。脊椎動物では10種類もの小胞体ストレスセンサーが存在していますが、小胞体ストレスが単に「構造異常タンパク質の蓄積」を意味しているのであれば多種多様なセンサーは不要なはずで、何故多数のセンサーが必要なのかは不明でした。

今回、メダカという脊椎動物モデルの初期発生過程（脊索という背骨ができる前に体軸として機能する重要な器官の発達過程）を用いて、生理的に発生する小胞体ストレスの原因タンパク質を究明したところ、場面によって原因タンパク質が異なり、状況の打開に最も適した小胞体ストレスセンサーが活性化されていることを明らかにしました。本研究の成果は、小胞体の機能異常に端を発する様々な疾患の発症機構の解明につながるかと期待されます。本成果は *Journal of Cell Biology* に掲載されました。

場面1：脊索細胞が整列して延びる



短鎖コラーゲン（8型）の立体構造形成のため ATF6 $\alpha$ /ATF6 $\beta$ を介したシャペロンの増量が重要

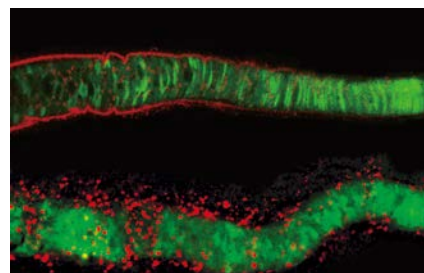
### 正常な脊索細胞

#### 小胞体ストレスセンサー欠損

ATF6 $\alpha$ /ATF6 $\beta$

BBF2H7

場面2：脊索細胞が鞘細胞に分化する



長鎖コラーゲン（2型、>300 nm）の輸送のため BBF2H7 を介した輸送小胞の巨大化が重要

## 1. 背景

「小胞体ストレス」は言葉の響きによって、外部から何らかのストレスが加えられたときに小胞体ストレス応答が発動すると誤解されがちです。小胞体ストレスを引き起こす実験ツールとして、薬剤が使われてきたことも、その誤解を助長してきました。ですが、そうではありません。薬を与えなくても、私達がたった1個の受精卵から個体として誕生してくる間に小胞体ストレスは発生しているのです。これを生理的小胞体ストレスと呼びます。生理的小胞体ストレスに適切に対応できないと私達は産まれてくることができません。例えば、小胞体ストレスセンサーATF6 $\alpha$ /ATF6 $\beta$ が働かないように遺伝子操作したマウスやメダカは非常に短命です。

本研究グループでは、2007年からメダカの初期発生過程を用いて、生理的小胞体ストレスの解析を行って来ました。その結果、脊索細胞が整列して延びる場面(1ページ目左下図)で生理的小胞体ストレスが発生することを見いだしました。正常な個体では8型コラーゲンなどの細胞外マトリックスタンパク質が多量に合成されて細胞外に分泌されることで細胞が外からしっかりと支えられ、脊索はスムーズに伸張していきます。このとき、8型コラーゲンなどの立体構造形成のために、小胞体ストレスセンサーATF6 $\alpha$ /ATF6 $\beta$ を介した分子シャペロンの増量が必須の役割を果たします。逆に、ATF6 $\alpha$ /ATF6 $\beta$ を欠損したメダカでは、細胞を支える細胞外マトリックスタンパク質の不足により、脊索細胞の並びがガタガタになり死に至ります。

## 2. 研究手法・成果

今回、BBF2H7という小胞体ストレスセンサーを欠損したメダカを作り観察したところ、尻尾が極端に短いことがわかりました。異常がいつから発生したのか初期発生過程を遡って解析したところ、脊索細胞が鞘細胞に分化する液胞化という場面(1ページ目右下図)で脊索が歪んでいることを見いだしました。この場面では、Jag1-Notch と言うシグナルが入ると、脊索細胞が鞘細胞に分化し、2型コラーゲンという長鎖コラーゲンを合成して細胞外へ分泌します。長い棒状の3重らせん構造をとった2型コラーゲンが細胞外で基底膜を形成し、鞘として脊索を囲むと歪みなく延びることができます。概要に記載したように、細胞外タンパク質が分泌される際には輸送小胞に取り込まれます。しかし、長鎖の2型コラーゲンは大きく、通常サイズの輸送小胞の中には取り込まれません。長鎖コラーゲンをどうやって運んでいるのかは、細胞生物学上の大きな争点でした。

近年、長鎖コラーゲンを取り込むために輸送小胞が巨大化することが明らかになり、巨大化に必要な遺伝子が複数同定されてきました。今回の研究で扱ったBBF2H7遺伝子破壊メダカの脊索では、輸送小胞巨大化に必要な遺伝子Sec23, Sec24, Sec13, Sec31, Tango1, Sedlin, KLHL12の発現量が軒並み低下していました。この結果、輸送小胞が巨大化せず、2型コラーゲンが細胞内に留まって鞘が形成されないため、脊索に歪みが生じるのです。

逆に言うと、正常なメダカでは、場面2液胞化の段階で長鎖コラーゲンを取り込むために、小胞体ストレスセンサーBBF2H7が活性化され、必要な遺伝子の発現量を纏めて上昇させることによって輸送小胞を巨大化させ、2型コラーゲンを細胞外に運んで鞘を形成させているのです。

この成果は、これまでの研究で行われてきた薬剤による小胞体ストレス発生のような現象は生体内では起こっていないことを意味します。薬剤を用いると多数のタンパク質が同時にかつシビアに構造異常になってしまいますが、生体内でのありようとは大きく異なります。現在、ビッグデータを取って解析するのが流行ですが、薬剤によって小胞体ストレスを負荷した細胞のデータ解析にどれほどの意義があるのかはなはだ疑問です。

小胞体ストレス応答の研究分野では、10種の小胞体ストレスセンサーの遺伝子を全身で欠損させたマウスや特定の器官でのみ欠損させたマウスの解析が行われていますが、これらの実験では初期の発生過程は観察できないため、小胞体ストレスの原因タンパク質を究明することは困難です。本成果は、初期発生過程を顕微鏡下で観察することができるメダカを使ったからこそ得られたものです。

### 3. 波及効果、今後の予定

今回の研究では扱わなかった残り7種類の小胞体ストレスセンサー（IRE1 $\alpha$ , IRE1 $\beta$ , PERK, OASIS, Luman, CREB-H, Tisp40）についても、いつ、どこで、どのような小胞体ストレスを感知して活性化しているのか、地道に解析していきたいと考えています。これらの遺伝子欠損メダカはすでに作成済みです。

小胞体ストレスならびに小胞体ストレス応答が、がん、動脈硬化、糖尿病、神経変性疾患等のさまざまな疾患に関与していることが報告されています。小胞体ストレス応答は諸刃の剣であり、細胞を守るだけでなく、小胞体ストレスが持続すると細胞死を誘導することも知られています。今回の結果により、従来考えられていたよりも、小胞体ストレスと小胞体ストレスセンサー分子の繋がりが複雑（もしくは巧妙）であることがわかりました。各疾患でどのような小胞体ストレスが生じており、どの小胞体ストレスセンサーを用いて細胞が恒常性を維持しているのか、その恒常性がどのようにして破綻していくのかを調べるのが疾患理解の第一歩になると考えられます。今後は徐々に、このような病理的小胞体ストレスの解明にシフトしていきたいと考えています。同時に、各小胞体ストレス応答センサーに働きかける物質・化合物がこれらの疾患の治療の一助になる可能性を提示することが出来ました。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は JSPS 科学研究費補助金（課題番号：26291040、15K18529、17H01432、17K15116）の支援を受けました。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：UPR Transducer BBF2H7 Allows Export of Type II Collagen in a Cargo- and Developmental Stage-Specific Manner

著者：石川時郎、遠山拓也、中村有貴、玉田健太郎、清水瞳、蜷川暁、岡田徹也、亀井保博（基生研）、藤堂剛（大阪大）、石川（藤原）智子（大阪大）、青山絵里子（岡山大）、滝川正春（岡山大）、原田彰宏（大阪大）、森和俊

掲載誌：Journal of Cell Biology