

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

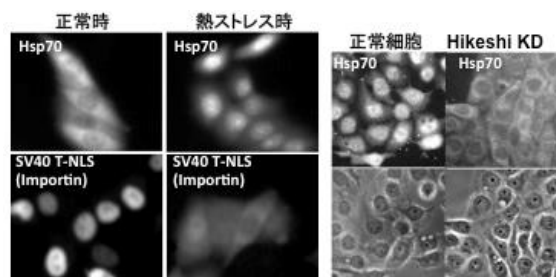
研究課題名	ストレス応答時に機能する新規核-細胞質間輸送経路の解明によるシャペロン機能の発掘
研究機関・部局・職名	独立行政法人理化学研究所・今本細胞核機能研究室・主任研究員
氏名	今本 尚子

【研究目的】

真核生物では、転写や複製などの遺伝子機能の場（細胞核、以下、核と記載）とタンパク質合成の場（細胞質）が核膜によって隔てられている。そのため、核と細胞質の間では絶え間ない情報分子の交換が核膜上の核膜孔複合体を通して行われている。このプロセスを担う核-細胞質間輸送は遺伝子発現制御の要として、細胞が基本的に生きていく上で必須だけでなく、その恒常性を維持し、外界の刺激に応答する上でも不可欠である。補助事業者は、初期から核-細胞質間輸送研究に携わり、最初の運搬体分子 importin β とそのアダプター分子 importin α を同定したのを端緒に、低分子量 GTPase Ran の GTPase サイクルが輸送の駆動力となる importin β ファミリーで担われる輸送の基本メカニズム、輸送経路の多様性、並びに、運搬体分子をはじめとする輸送の担い手の多機能性を明らかにするなど、これまで当該分野の進展に深く貢献してきた。

これまでに大部分のタンパク質の核内外輸送は importin β ファミリー運搬体分子群によって担われることが明らかにされている。しかし、熱ショックをはじめとする細胞のストレス応答時には、importin β ファミリーが働く上で鍵となる低分子量 GTPase Ran の活性が低下すると考えられ、この運搬体ファミリーで担われる輸送経路全般の活性が低下する。その一方で、代表的な分子シャペロンである 70kDa 熱ショックタンパク質 (hsp70/hsc70: Hsp70) は、熱ストレスをはじめとするストレス応答時に核内に強く集積することが古くから知られている。実際、定常時と熱ストレス応答時に機能する輸送経路を調べると、熱ストレス応答時に importin β ファミリーの輸送効率が低下する一方で、分子シャペロン Hsp70 の核内輸送効率が劇的に上昇することがわかった。そのため、熱ストレス応答時に細胞内で機能する輸送経路の同定を試みてきた。その結果、驚いたことに、熱ストレス応答時は、importin β ファミリーに属さない全く新規の運搬体分子が Hsp70 を核に運ぶことを発見した。この分子は、ヒトでは機能未知分子 C11orf73 (chromosome11 open reading frame73) としてデータベース上に登録されており、酵母からヒトに至るまで広く保存されている。C11orf73 組換えタンパク質は Hsp70 と核膜孔複合体の両方と相互作用し、無細胞系では組換え C11orf73 精製タンパク質を添加することで、生細胞で見られる核内輸送を再構成することができる。生細胞から C11orf73 を RNA 干渉で除去すると、ストレス応答時に見られる Hsp70 の核内集積が強く阻害される (図1 参照)。これらのことから、熱ショックなどのストレス応答時には定常時で機能する importin β ファミリー輸送経路の活性が低下する一方で、これまで知られていなかった

た新規の核-細胞質間輸送経路が駆動するという、これまで想定されなかった核-細胞質間輸送システムの大きな変換がおこると考えられる。私たちが見つけた新規運搬体分子は種間で保存されており、ストレス応答時に機能する新規輸送経路も酵母からヒトに至るまで広く保存されていると予想され、その重要性がうかがえる。



左図: 輸送の切り替わり

正常時の細胞では Importin の基質 (SV40T-NLS) が核に移行するに対して Hsp70 は核に移行しない。逆に、熱ストレス時の細胞では Hsp70 が核に移行するのに対して Importin 基質の核移行が低下する。

右図: ストレス時に核内輸送を担う Hikeshi

ストレス時に誘導される Hsp70 の核内輸送 (左) は Hikeshi をノックダウン (Hikeshi KD) すると強く阻害される (右)。左と右図の観察は HeLa 細胞。

上記の知見を踏まえ、本研究期間内に 1) 新規に同定した輸送経路の分子メカニズム、2) 新規運搬体分子の細胞における機能的な重要性を明らかにすることの 2 点に先ず取り組む。C11orf73 輸送経路が活性化される分子機構を運搬体が Hsp70 を認識する機構を明らかにすることで解析する。また、新しく同定した輸送因子が生物種間で保存されていることに鑑み、新規運搬体分子の機能を、モデル生物を用いて解析していく基盤をつくる。

分子シャペロン Hsp70 が核に集積することは 30 年近く前から明らかにされている。しかし、ストレス時に核に局在することの重要性は明らかにされていない。核に運ぶ運搬体分子の情報なくして Hsp70 の細胞内局在を制御することが不可能であったからである。新規輸送経路はそのことを可能にし、新しいシャペロン機能の発掘にも繋がると予想される。分子シャペロンは個体レベルの老化や癌の悪性化と深く関わるということが報告されており、その機能発現制御は医学的・社会的にも関心が持たれる。本研究では高次生命機能との関連で新規輸送経路を解析するための基盤を築き、将来的には医学応用をも視野に入れた研究へと展開したい。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

研究代表者らは熱ストレス時に駆動される新規核-細胞質間輸送経路を見出し、その輸送鍵分子として Hikeshi を同定した。同グループによるこれまでの核-細胞質間輸送研究を基に、新たな核-細胞質間輸送経路の分子メカニズムを解明したことは高く評価される。一方で輸送システムの切り替え、酵母を用いた輸送モデルなどは研究が遅れており、結晶構造解析、細胞内での Hikeshi-HSP70 結合の蛍光イメージング解

析、モデル生物を用いた機能解析は本研究終了時においても継続中であることがうかがわれる。当初の計画がすべて順調に推移したとは判断しがたいが、極めて独自性の高い研究であり、今後の発展に期待したい。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

Hikeshi の発見は、大きなインパクトを持ち、それが線虫や酵母からヒトに至るまで同じ機能を持つことを明らかにすることで、熱ショックでの必須な役割がさらに確認されるというアプローチは重要である。また、モデル生物での機能解析は新規核-細胞質間輸送経路と生体機能をつなぐ重要な発見が得られる可能性がある。一方で、その分子機構を明らかにするための、構造的アプローチや蛍光イメージングはタンパク質の性質に依存することもあり、研究進行には予備的ではあるが重要な多くの条件検討が必要になると思われる。これらの困難に対してどのようなトラブルシューティングを用意し、計画を推進していくのか、そのようが具体的な方策が十分練られていないように見受けられた。今後も研究を継続し、当初に得られていた知見を大きく展開させることを期待したい。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレイクスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

熱ショック/ストレス応答における新規因子 Hikeshi を発見し、これが Hsp70 の核移行に必須な役割を担うことを明らかにした点は、オリジナルな仕事として大きな波及効果がある。核-細胞質間輸送については、importin ですべてが説明されるという考えが支配的であった。この分野に風穴を開けたのが Hikeshi の発見だと言える。この発見は熱ショックを中心とするストレス応答の解明に重要なエポックを打ち立てるものである。Hikeshi の機能解明で Hsp70 の核移行が生理的にどのような意義を持つか新たな研究のフィールドが拓がりつつある。また、神経変性疾患ペリツェウス・メルバッハー病様の患者由来のエキソームシーケンス解析から、Hikeshi 遺伝子の変異があることがわかった (共同研究) ことも当初の研究目的になかった重要な発見であり、特筆に値する。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

長年の核-細胞質間輸送研究をベースとして、本補助事業期間中に新規の輸送経路の発見およびその鍵因子の同定が行われた。また、新たに分子シャペロンシステムとの連動を見いだしていることなどから、これらの研究成果は当該研究分野の進展に大きく寄与すると予想される。細胞ストレスや分子シャペロンは神経疾患、がんなどの疾病や老化に関わることが報告されている。研究代表者はその制御メカニズムを明らかにすることで、疾病の克服を視野に入れた研究展開を目指している。モデル生物のフェノタイプ解析が進み、再構成実験や細胞生物学的実験で得られたメカニズムを基にした統合的研究が推進されれば、本研究課題の社会的課題への貢献についてさらに具体的な提案ができると思われる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

マネジメントとしては特に問題はないが、博士研究員の着任の遅れが、体制構築の遅れにつながり、研究の加速の上で問題になるなど、体制作りが本課題終了後も大切になると思われる。論文発表などは着実に進行しており、問題はないが、2012年のCellの論文のインパクトが大きかっただけに今後の期待も大きい。一層の努力を期待したい。