

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名: ストレスの受容・認識とシグナル変換の分子機構

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

一條 秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

細胞は常に多種多様な物理化学的ならびに生物学的ストレスに曝されているが、近年これらの環境ストレスに対する生理的応答機構の破綻が様々な疾患の原因となることが明らかになりつつある。一方で、多様なストレスに対するセンサーの実体ならびにシグナル伝達機構については未だに不明な点が多い。当該研究代表者(一條秀憲)のグループは、「細胞がストレスを感知し、ストレスに適切に応答する仕組み」を明らかにするために、物理化学的ならびに生物学的ストレスによる MAP キナーゼファミリーの活性制御機構とその生物学的ならびに病態生理学的意義の解明について研究を行った。具体的には、「ストレスの受容・認識とシグナル変換の分子機構」を明らかにするために、ストレスによる MAP3K ファミリー活性制御機構に焦点を当て、MAP3K ファミリーの結合タンパク質の同定と機能解析を主な手法として研究を推進した。特に、当グループの世界的先進性ならびに独自性が高い ASK1-MAP キナーゼ系ならびに ASK ファミリー分子群の解析を軸に据え、two-hybrid スクリーニング、プロテオーム解析ならびにノックアウトマウス作成等の手法を駆使し、MAP3K ファミリー結合タンパク質の機能解析を行うことによって、細胞のストレス応答分子機構の解明を推進した。

研究成果は多くの一流紙に十分発表されており、58 編の論文発表、21 回の国際会議の招待講演・発表がある。しかも論文は *Nature Immunol*, *Nature Med.*, *Nature Cell Biol.*, *Mol. Cell*, *J. Cell Biol.*, *EMBO J.* など、その多くが一流紙に掲載されるとともに、総説等も積極的に発表しており、成果発表は申し分ない。

その成果内容は、酸化ストレス依存的な ASK1 活性制御機構、Thioredoxin および TRAF ファミリー分子による ASK1 活性制御機構、ASK1-Trx 相互作用の時空間的制御機構、脱ユビキチン化酵素 FAF-X による ASK1 活性制御機構、新規 ASK1 活性化因子としてのプロテインホスファターゼ PGLM の同定とストレス応答ならびに選択的 pre-mRNA スプライシングの制御機構、自然免疫応答における ASK1-p38 系シグナルの解析、新規 ASK ファミリー分子 ASK2 の同定ならびに腫瘍形成抑制機構、浸透圧ストレス応答における ASK3 シグナル伝達経路の解析など、ASK ファミリーならびに MAP3K ファミリー結合タンパク質の解析に特化しながらも極めて多岐に及び、ストレス応答機構における多くの新知見をもたらしている。とりわけ、MAP3K ファミリーの活性制御分子機構解析においては、MAP3K ファミリー活性制御機構として MAP3K ファミリー結合タンパク質の存在を想定し、ASK ファミリーならびに ASK ファミリー以外の MAP3K ファミリーをベイトとする two-hybrid 法ならびに Pull-down 法等によって結合分子の同定を網羅的に進め、50 種類以上の結合タンパク質の解析を行った結果、PGLM, WNK 等、MAP3K ファミリーを介する新たなストレス応答機構を発見した。さらに ASK1, ASK2, ASK3 の各ノックアウトマウスの作成、掛け合わせ、ならびに MEKK1 等、ASK ファミリー以外の MAP3K ファミリーノックアウトマウスとの掛け合わせを行い、MAP3K ファミリーのストレスシグナル伝達機構における特異性ならびに必要性の分子遺伝学的解析を行うことによって、ASK1, ASK2, ASK3 の新たな機能として、それぞれ自然免疫

応答、紫外線誘導性アポトーシス応答、浸透圧ストレス応答における役割を明らかにした。さらに活性酸素依存的な ASK1 活性化機構における ASK1 シグナルソームの役割の解明や、TNF や LPS (lipopolysaccharide) による活性化の際の TRAF 依存的活性化における ROS の関与などについても大きな進展が見られた。

一方、新規 ASK ファミリー分子 ASK2 の同定と活性化機構の解明にも大きな進捗が得られた。ASK1 ノックアウト細胞ならびに ASK2 特異的抗体による解析等から、ASK2 タンパク質の安定化には ASK1 との複合体形成が必要であることが明らかになり、ASK1 シグナルソームには、おそらく ASK2 の発現レベルなどの細胞の状況に応じて、ASK1 ホモ複合体をベースにするものと、ASK1-ASK2 ヘテロ複合体をベースにするものとが存在することが明らかにされた。

さらに、浸透圧ストレス応答における ASK3 シグナル伝達経路の解析に関しては、ASK3 が浸透圧ストレスに対して活性が両方向性に变化することを明らかにし、MAPK 経路のみならず WNK-SPAK/OSR1 経路というイオン輸送に参与するシグナル伝達を調節することを解明した。この経路は浸透圧ストレス時の急激な細胞の体積調節などに重要な役割を果たしていると考えられている。また、ASK3 結合分子のスクリーニングの結果から WNK キナーゼの他にも多くの分子が得られ、生体が浸透圧ストレスをどのように受容し、適応・応答反応につなげているかについて、今後そのメカニズムの全貌を明らかにするための多くの情報が得られている。

以上のように、当該研究は、ASK ファミリーの解析を軸として、MAP3K ファミリー分子群についてもその結合タンパク質解析を行った結果、酸化ストレス、浸透圧ストレス、病原体感染等に対する新たなストレス応答機構の発見に至った。またこれらのシグナル系が、炎症、がん、神経変性などの発症に深く関与することも明らかにされつつあり、本研究の成果は「ストレス応答の分子細胞生物学」という新たな学問領域の開拓に寄与するとともに、ストレス関連疾患の診断法・予防法・治療法の開発ならびに全く新しい創薬基盤の解明へと発展しつつある。

#### 4. 事後評価結果

##### 4 - 1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

58 編の論文発表、21 回の国際会議の招待講演・発表があり、成果発表は申し分ない。論文は多くが一流紙に掲載されており、総説等も積極的に発表している。また、口頭発表の数も多い。

特許に関しては、国内 6 件、海外 1 件の特許が出願されている。知的所有権の確保に意欲的に取り組んできたといえる。得られた成果とその発展性から見ると、さらに今後も飛躍的な知的所有権の確保が期待できる。

##### 4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

研究内容はその新規性、スケールともに申し分なく、得られた研究成果の科学的インパクトは極めて高いといえる。ASK ファミリーの解析を軸に多面的に発展し、Ask1 シグナルソームの解析、Ask2 の Ask1 を介した活性制御および新規癌抑制遺伝子産物である可能性、Ask3 の浸透圧ストレスに対する活性の両方向性等、きっちりと成果が出されている。このように独自の世界を構築しており、情報伝達とストレス応答の分野で、国際的に高い評価が得られている。現時点では順調に進展していると結論できるが、今後は、どこに焦点を絞ってさらなる発展に繋げるかが課題であろう。今後の展開次第で、大きな技術的インパクトが出る可能性もある。特に、たんぱく質の立体構造解析の成果が出ると、その知見を活用した創薬(抗ガン剤、抗炎症剤、抗 ALS など)への発展も期待される。

国内外の類似研究成果と比較しても、そのオリジナリティーに基づく研究の先進性は高く評価

できる。多様な MAP キナーゼカスケード群の中でストレスに係る Ask1/2-p38 経路ならびに Ask3-WNK 経路は、研究代表者らが発見した経路であり、以後現在に至るも国内外で研究を先導している。この課題では、代表者のグループが、研究戦略、研究手法、研究材料等の点で間違いなく国際的にトップレベルにある。

また、今後、研究成果のさらなる展開が大いに期待できる課題であるストレスと環境応答の課題は、疾病との関連性も含めて、その重要性が高まるであろうし、研究代表者らは、ASK ファミリーが炎症、がん、神経変性などの発症に深く関与することも明らかにしつつある。ASK の高次構造解析ならびに ASK や MAPK 等と相互作用するたんぱく質群の詳細な解析が進めば創薬など多方面での応用が期待される。

#### 4 - 3 . その他の特記事項(受賞歴など)

なし