

様式 C - 7 - 1

平成30年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	研究推進機構		
	職	特任教授		
	氏名	河野 憲二		

1. 研究種目名 基盤研究(A)(一般) 2. 課題番号 17H01468

3. 研究課題名 細胞や生体の恒常性維持に必要な生理的小胞体ストレス応答機構の解明

4. 研究期間 平成29年度～令和元年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

(1) 膵島細胞におけるIRE1及びATF6経路活性化の生理的役割
ATF6 単独のKOマウスは、野生型と比べて差は認められないが、そのマウスにIre1 (R/ R) の形質を導入すると、生後8週齢ですでに顕著な糖尿病症状を示すことがわかった。この表現型はIre1 (R/ R) マウスが示すよりもより顕著な症状であった。DKOマウスでは膵島が顕著に萎縮しており、膵島を単離して調べることは困難であった。そこで今までに作製したMIN6(Ire1 R/ R, Atf6 +/+)細胞に、ATF6 の特異的阻害剤CeapinA7を処理し、増殖と生存率、インスリン分泌などについて調べた。その結果、インスリン分泌においてはIre1 遺伝子が大きく関与しているが、さらにAtf6 のKOが加わると、細胞増殖・細胞周期に大きな影響がでて、インスリン分泌よりも細胞の生存にとって必須な因子が影響を受けている可能性が高いことが明らかとなった。

(2) 翻訳ポージングと運動した新規SRP経路の解析と小胞体ストレス応答
小胞体ストレス応答に重要な役割を担うXBP1uタンパク質は、C末端側で翻訳ポージングを起こすことを明らかにした。リボソームプロファイリングによりMet(260)がPTCでポージングを起こしていることも明らかとなった。今年度は、XBP1uのC末側のアミノ酸とリボソームトンネル内の因子の相互作用が翻訳ポージングに大きな影響を起こすことを光架橋実験と変異遺伝子を用いることにより解析した。その結果、リボソームトンネル狭窄部位を形成するuL4タンパク質との相互作用がポージングに重要であること、さらに71番目のArgとXBP1uがダイレクトに相互作用しているという結果を得た。

7. キーワード

小胞体ストレス 糖尿病 プロインスリン 翻訳休止 特殊スプライシング

8. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由
(1) MIN6(Ire1 R/ R, Atf6 +/+)細胞にCeapinA7を処理をすると細胞の増殖と生存率が顕著に落ちることが判明した。MIN6(Ire1 fl/fl, Atf6 -/-)細胞にAd-Creを感染させIre1 遺伝子をKOした細胞を単離しようとしたが、選択して残ってくる細胞は、KOされていない細胞のみ増えてきた。これらの結果を総合して考えると、膵島細胞では両遺伝子をKOすると細胞死を起こすか、細胞の増殖停止を起こすことが予想された。(2) 今までの解析からリボソームトンネルの狭窄部位を形成するuL4のArg71がXBP1uと相互作用する可能性があったので、細胞にuL4(Arg71)のアミノ酸をLys, Trp, Ala, Gly, Gluに置換した変異型uL4を細胞に発現し、ポージングが変化するかどうかを調べたところ、Lysのみポージングを起こし、その他のアミノ酸は全てポージング作用を失った。この結果は、XBP1uはリボソームのuL4と相互作用し、特に71番目のArgとの相互作用がポージングに重要であることが示唆している。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

本年度の結果から、藤島 細胞の増殖にとり、ATF6aとIRE1a遺伝子は非常に重要な役割をしている可能性が示唆され、またXBP1uのポージングにuL4(Arg71)が大きく関わっている可能性が示された。最終年度はこれらの結果をもっと明確に示すことを目指して研究を進める。

10. 研究発表（平成30年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsuchiya Yuichi, Saito Michiko, Kadokura Hiroshi, Miyazaki Jun-ichi, Tashiro Fumi, Imagawa Yusuke, Iwawaki Takao, Kohno Kenji	4. 巻 217
2. 論文標題 IRE1-XBP1 pathway regulates oxidative proinsulin folding in pancreatic cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1287 ~ 1301
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.201707143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Mai Chi Thanh, Le Quynh Giang, Ishiwata-Kimata Yuki, Takagi Hiroshi, Kohno Kenji, Kimata Yukio	4. 巻 18
2. 論文標題 4-Phenylbutyrate suppresses the unfolded protein response without restoring protein folding in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEMS Yeast Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/femsyr/foy016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujimoto Takushi, Nakamura Oriie, Saito Michiko, Tsuru Akio, Matsumoto Masaki, Kohno Kenji, Inaba Kenji, Kadokura Hiroshi	4. 巻 293
2. 論文標題 Identification of the physiological substrates of PD1p, a pancreas-specific protein-disulfide isomerase family member	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 18421 ~ 18433
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.RA118.003694	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大古殿美加、河野憲二	4. 巻 267
2. 論文標題 小胞体膜への蛋白質の標的化 蛋白質の個性に応じた輸送経路	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 971-975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 土屋雄一、河野憲二	4. 巻 57
2. 論文標題 小胞体ストレスセンサーIRE1 によるプロインスリンの酸化的折り畳みの制御機構	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 161-166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 小池雅俊
2. 発表標題 Conserved overlapping coding frame regulates two types of XBP1 functions.
3. 学会等名 新学術若手ワークショップ
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柳谷耕太
2. 発表標題 みなしごサブユニットに対する品質管理因子の発見
3. 学会等名 新学術若手ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

2 版

1. 発表者名 Tsuchiya Yuichi, Saito Michiko, Kadokura Hiroshi, Miyazaki Jun-ichi, Tashiro Fumi, Imagawa Yusuke, Iwawaki Takao, Kohno Kenji
2. 発表標題 IRE1 -XBP1 pathway regulates oxidative proinsulin folding in pancreatic cells.
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaaki Koike
2. 発表標題 Conserved overlapping coding frame regulates two types of XBP1 functions.
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Kohno
2. 発表標題 The role and the mechanism of XBP1u-translational pausing in the ER stress signaling.
3. 学会等名 International Symposium; Proteins: From the cradle to the grave (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akio Tsuru
2. 発表標題 Requirement of ER stress response for nematode expulsion through mature mucin production by IRE1 specific pathway.
3. 学会等名 International Symposium; Proteins: From the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaaki Koike
2. 発表標題 XBP1 encodes SRP recognition motif and transactivation domain in a conserved dual-coding frame.
3. 学会等名 International Symposium; Proteins: From the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuichi Tsuchiya
2. 発表標題 IRE1 -XBP1 pathway regulates oxidative proinsulin folding in pancreatic cells.
3. 学会等名 International Symposium; Proteins: From the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Miku Ohfurudono
2. 発表標題 XBP1u translational pausing requires the interaction between own nascent chain and ribosomal proteins.
3. 学会等名 International Symposium; Proteins: From the cradle to the grave (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kenji Kohno
2. 発表標題 The role and mechanism of XBP1u-translational pausing in the ER stress signaling.
3. 学会等名 EMBO workshop: Endoplasmic Reticulum function and disease (国際学会)
4. 発表年 2018年

2 版

1. 発表者名 Kenji Kohno
2. 発表標題 XBP1u翻訳休止機構と小胞体ストレス下での役割
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ashway Sogawa
2. 発表標題 Roles of listerin in protein translocation into the endoplasmic reticulum.
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kota Yanagitani
2. 発表標題 みなしご蛋白質に対する品質管理因子UBE20の発見
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kimata, Y., Nguyen, T.M.P., Kohno, K.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 -
3. 書名 Stress response mechanisms in fungi-theoretical and practical aspects	

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
ドイツ	Ludwig-Maximilians- Universitat Munchen	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-

1 4 . 備考

河野特任研究プロジェクト
<http://www.naist.jp/iri/kouno/>