Osaka University Knowledge Archive

Title	JAB1 participates in unfolded protein responses by association and dissociation with IRE1.
Author(s)	大野, 加代子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45243
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【3】

氏　　名	大　野　加代子（おお の かよこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１８４３１　号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学　位　論　文　名	JAB1 participates in unfolded protein responses by association and dissociation with IRE1. （IRE1 と相互作用することで Unfolded Protein Response に関わる分子 JAB1）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　遠山　正彌 （副査） 教　授　米田　悦啓　　教　授　三木　直正

論　文　内　容　の　要　旨

［目的］

アルツハイマー病をはじめとするいくつかの神経変性疾患で見られる神経細胞死は、小胞体（ER）を起源とする細胞死であることが我々の研究で明らかとなってきた。この小胞体由来の細胞死は、刺激や環境の変化によって小胞体内に異常な蛋白質が蓄積する、いわゆる小胞体ストレスという状態が長時間持続することで引き起こされる。小胞体には、このような異常蛋白質を感知し、細胞質や核へシグナルを伝達して生体を防御する役割を担う小胞体ストレストランスデューサー（センサー）分子がいくつか知られている。我々は、このようなセンサー蛋白質の一つ IRE1 の詳細なシグナル伝達機構を明らかにする目的で以下の実験を行った。

［方法ならびに成績］

酵母 two hybrid system を用いて IRE1 に相互作用する分子の同定を試みた。その結果、既存の IRE1 結合因子としてしられる JIK の他に、いくつかの結合候補因子が同定された。このうちの一つ JAB1（c-jun activation domain binding protein1）は、これまで細胞周期や JNK 経路に関与する分子として報告されてきたが、小胞体ストレスに関する機能は全く解明されていない。

我々はまず IRE1 と JAB1 の相互作用を確認するために、HEK293T 細胞に両者を強制発現させ免疫沈降を行い、ヒトの細胞における両者の結合を確認した。次にこの細胞にサプシガルジン及びツニカマイシンを用いて小胞体ストレスを負荷し時間をおって結合の様子を観察した。すると面白いことに両者の結合は経時的に減少することが明らかとなった。また同細胞を免疫染色すると、JAB1 は小胞体ストレス負荷後小胞体から核内へと局在が変化していることが確認された。更に小胞体ストレスによる IRE1 と JAB1 の解離を詳細に検討するため、サプシガルジンを様々な濃度で添加し、小胞体ストレスの強度を変えて免疫沈降を行った。すると小胞体ストレスの強度が高いほど IRE1 と JAB1 の解離が起こりやすいことがわかった。ただし 0.5 μM という濃度でサプシガルジンを添加した場合には、一過性に結合量が増加しその後減少するという特殊なパターンを示した。

次に JAB1 の potential NES（核外移行シグナル）に点変異を加えた変異 JAB1（NESmt）や、NES を含む C 末

端ドメインを欠く変異 JAB1（deltaC）の発現ベクターを作成し、免疫沈降で IRE1 との結合を調べた。すると、正常な JAB1 と比較して IRE1 との結合は強く、また小胞体ストレス負荷時に見られた IRE1 からの解離が見られず、結合が保持されていた。更にこの時の IRE1 シグナリングの下流として、XBP1 のスプライシングと分子シャペロン BiP/GRP78 の誘導を正常なものと比較してみた。すると、変異 JAB1 発現時にはこれらの下流シグナルの活性化が抑制され、JAB1 の解離量と UPR 活性化に相関性が見られた。

［総括］

IRE1 は UPR の活性化だけではなく、JNK を介した細胞死シグナリングにも関与していることで知られる。この相反する２つのシグナルのバランスを調節するメカニズムを調べるため、我々は IRE1 結合蛋白質を探索し JAB1 を同定した。JAB1 は機能が未知のコンセンサス配列 MPN ドメインを持っているが、このドメインを含む領域で IRE1 の膜貫通ドメインの C 末端側にあるリンカードメインに結合していると考えられる。JAB1 はヒト培養細胞においても IRE1 に強く結合するが、小胞体ストレスの負荷がかかるとこの結合量は減少し、JAB1 は小胞体から核へと移行し局在を変化させた。この解離は、IRE1 による XBP1 のスプライシング及び分子シャペロン BiP/GRP78 の誘導といった UPR 活性化に必要で、通常は IRE1 に結合していることで UPR に抑制的に働いていることが示唆された。また、小胞体ストレスの強度に対応して解離量が変化させることで IRE1 シグナリングを調節し、UPR とアポトーシスという小胞体を起因とした IRE1 の２つのシグナリングのバランスを調節する鍵分子ではないかと期待される。

論文審査の結果の要旨

アルツハイマー病などの神経変性疾患は、高齢化社会においてますますその解明・研究に注目が高まっている。これらの疾患で起こる神経細胞死が小胞体を起源としたアポトーシスであることが指摘されてきたことから、小胞体ストレスと細胞死との関係解明は重要である。

IRE1 分子は小胞体ストレスに対する防御機構の活性化因子である。しかし一方で細胞死シグナリングにも関与する。この相反する２つのシグナルのバランスを調節するメカニズムを解明するため、本研究では IRE1 結合タンパク質を探索し、JAB1 を同定した。小胞体ストレス条件下において細胞の運命を左右する鍵分子候補として、JAB1 がストレスの強度に応じて IRE1 と相互作用することで IRE1 シグナリングの調節に関与し、更には細胞の運命を左右する重要な鍵分子であることを解明した。

本研究は博士（医学）の学位授与に値するものと認める。