

氏名(本籍)	李麗(中国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第5482号
学位授与年月日	平成22年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Multiple sensing mechanism of the Keap1-Nrf2 system for responding to a wide range of activators (多様な活性化シグナルへの応答を可能とした Keap1-Nrf2 システムの多角的感知機構)
主査	筑波大学教授 薬学博士 熊谷嘉人
副査	筑波大学准教授 博士(医学) 工藤崇
副査	筑波大学准教授 博士(工学) 奥脇暢
副査	筑波大学助教 博士(薬学) 鈴木裕之

論文の内容の要旨

(目的)

Keap1-Nrf2 システムは、さまざまな親電子性分子やストレスに応答し、異物代謝酵素群や抗酸化ストレスタンパク質群などの生体防御遺伝子を一齐に発現誘導する防御システムである。このシステムを中心を担う転写因子 Nrf2 は、通常、プロテアソームにより分解されているが、細胞が親電子性分子やストレスのシグナルを感知すると安定化し、標的遺伝子群の転写を強力に活性化ようになる。分解制御の実体は、ユビキチンリガーゼ Cul3 と Nrf2 特異的な基質アダプター Keap1 による Nrf2 のユビキチン化であることが明らかになっているが、Nrf2 活性化シグナルに関しては明快ではない。そこで、本研究では、多様な Nrf2 活性化シグナルに対する Keap1-Nrf2 の感知機構のセンサー分子同定を含め、具体的な分子基盤を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

本研究では Nrf2 や Keap1 の働きを簡便にかつ再現性良く解析できるゼブラフィッシュ初期胚と幼魚を用いた実験胚発生学と遺伝学を駆使した。実験胚発生学的手法として、RNA や DNA の微注入により、特定の転写因子の過剰発現、さらに胚が透明であるため GFP (green fluorescence protein) などのレポーター遺伝子を用いて、各種遺伝子の発現変動の様子を検討した。また、遺伝学的手法として、表現型から原因遺伝子を調べる順方向遺伝学を用いて、通常状態においても Nrf2 が活性化する変異体の解析を行った。

(結果)

11 種の Nrf2 の活性化分子を用いて、これらがゼブラフィッシュ Nrf2 を活性化することを示した。次に、それぞれの活性化分子の応答に対する Keap1 の必要性を検証した。ここで注目すべきは、ゼブラフィッシュには二つの Keap1、Keap1a と Keap1b が存在することであり、活性化分子によっては、この二つの Keap1 の必要性が異なることが明らかとなった。たとえば、発がん予防に有効なスルフォラファンなどは Cys151 をセンサーとするのに対して、Nrf2 の内在性活性化分子である 15-デオキシデルタ 12, 14-プロスタグラ

ンジン J₂ などは Cys151 を必要とせず Cys273 をセンサーとすること、過酸化水素や重金属などは Keap1 以外の因子をセンサー分子とすることが示唆された。一方、Keap1-Nrf2 システムに関わる未知因子同定を目的に、同システムに異常をもつ突然変異ゼブラフィッシュの大規模スクリーンを行なった。突然変異系統の解析から、Keap1-Nrf2 システムは外来ストレスだけではなく、小胞体ストレスなど内在性ストレスにも応答することが示唆された。生体は小胞体ストレスに対して代表的な 3 つの経路を介して応答するが、Keap1-Nrf2 システムの活性化はそのうち PERK 経路に依存することを明らかにした。さらに、トランスジェニック GFP 系統を駆使した簡便な Nrf2 活性化分子の検出・分類システムを構築した。

(考察)

Nrf2 活性化分子の感知機構に関しては、さまざまな研究グループからいろいろな説が報告されていた。しかし、網羅的に解析された例はなく、特異性はあまりないものと考えられてきた。本研究により、Keap1-Nrf2 システムは特異的なセンサーが集合したシステムであることが示唆された。今後は、個々のセンサーの分子実体の同定とともに、異なるセンサーからのシグナル統合のしくみの解明が課題となる。一方、Keap1-Nrf2 システムは外来性ストレスだけでなく、内在性の細胞ストレスに対しても応答するという事実は、同システムが体内のストレスに対する防御機構であることを示唆する。種々の疾患の病態発症は、実は炎症反応や過剰免疫など体内で生じたストレスによるものであることが叫ばれるようになってきた。本研究の成果は、こうした疾患の治療戦略のひとつに、Keap1-Nrf2 システムの活用を提案するものとなった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、Nrf2 や Keap1 の働きを簡便にかつ再現性良く解析できるゼブラフィッシュ初期胚と幼魚を用いて、Nrf2 活性化と Keap1 の化学修飾との関係を中心に行ったものである。得られた成果より、異なる構造を示す化学物質が、Keap1 の異なるシステイン残基を化学修飾することで Nrf2 活性化を生じる知見を得た。また、Keap1 の化学修飾以外の因子が Nrf2 活性化に寄与することも見出した。Nrf2/Keap1 システムは外因性だけでなく、内在性ストレスの感知システムで重要な役割を担っていることから、本研究は高く評価される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。