

細胞は日々様々なストレスに曝されており、ストレスに対して特定のシグナル伝達ネットワークを活性化し、適切な応答を行なうことで恒常性を維持している。中でも MAPK 経路は真核生物に広く保存された細胞内シグナル伝達経路である。Apoptosis signal-regulating kinase 3 (ASK3)は、MAPK 経路の最上流である MAP3K に属する。これまでに、ASK3 は浸透圧ストレスに対して低浸透圧ではリン酸化され活性化する一方で高浸透圧では脱リン酸化され不活性化するという特徴的な活性変化を示すことや、ASK3 が浸透圧負荷時の細胞内のイオンの輸送を調節する WNK1-SPAK/OSR1 経路を制御し、腎臓を介した血圧制御に関わっていることが報告されている。ASK3 の活性変化は浸透圧変化に対して 2 分以内に迅速かつ可逆的に起こる。ここで、浸透圧ストレス下での ASK3 の局在を確認すると、ASK3 は低浸透圧や等浸透圧では細胞質に拡散して存在するのに対し、高浸透圧ストレスに応じて 2 分以内に迅速にグラニューール (ASK3 グラニューール)を形成することが観察された。この ASK3 グラニューールへの局在変化は等浸透圧に戻すと解除される可逆的な局在変化であった。

細胞内小器官を始めとした細胞内構造体は、シグナル伝達因子の局在制御など様々な機構により細胞内シグナル伝達を制御している。ストレス依存的に形成される細胞内構造体として知られるストレスグラニューールや P-body は、発見当初は mRNA を保管・分解する小器官としての機能しか持っていないと考えられていた。しかし、近年これらの構造体もシグナル伝達因子を構造体内部に保持し、局在を制御することで細胞内シグナル伝達に関わっていることが明らかになってきている。

ASK3 の活性変化が浸透圧変化に対して迅速かつ可逆的に起こることと、ASK3 グラニューールの形成も迅速かつ可逆的に起こることから、ASK3 グラニューールの形成と ASK3 を介するシグナル伝達に何らかの関係があることが考えられた。そこで、本研究では ASK3 グラニューール構成タンパク質を同定し、その機能を解析する方針がとられた。以下に本研究によって得られた主要な知見をまとめた。

- ・ ASK3 グラニューールがストレスグラニューールや P-body とは局在が異なる構造体であることが示された。
- ・ ASK3 グラニューール構成タンパク質として BAG2 と HSP70 を同定した。
- ・ HSP70 のシャペロン機能によって、長時間の高浸透圧で ASK3 が不溶化するのを防ぐと同時に ASK3 グラニューールの可逆性を維持していることを示した。
- ・ HSP70 のシャペロン機能によって、ASK3 の高浸透圧での脱リン酸化反応や、高浸透圧から低浸透圧にしたときの可逆的なリン酸化反応が維持されていることを示した。

本研究では、まず ASK3 グラニューールと共局在する細胞内構造体がないか検討が行なわれた。ストレスグラニューールや P-body は高浸透圧ストレスで形成が促進される細胞内構造体として知られているが、ASK3 グラニューールはこれらの細胞内構造体とは局在が異なることが示された。次に、ASK3 グラニューールの構造を保ったまま細胞内から単離する方法を新たに構築し、質量分析計による解析を行なった結果、これまで全く明らかになっていなかった ASK3 グラニューール構成タンパク質としてシャペロン活性を持つ HSP70 と、HSP70 の機能を補助する分子として知られる BAG2 を同定した。さらに、HSP70 のシャペロン活性阻害による ASK3 の不溶化への影響と、リン酸化変化への影響を明らかにした。ASK3 の浸透圧ストレス下での活性制御機構は未解明な部分が多く、本研究は ASK3 の活性制御機構の新たな一面を明らかにするものである。

また、本研究によりこれまでに全く明らかになっていなかった ASK3 グラニューールの役割として、高浸透圧ストレス下で HSP70 が ASK3 のリフォールディングを効率的に行なうための場として機能する可能性が示唆された。この結果は今後 ASK3 を介する細胞の浸透圧ストレス応答における ASK3 グラニューールの役割を明らかにする上で重要な知見であると考えられる。

よって本論文は博士(薬科学)の学位請求論文として合格と認められる。