

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成25年3月31日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 広島大学大学院医歯薬学総合研究科  
職名 准教授  
申請代表者 鎌田英明  
勤務先所在地 〒734-8553  
広島市南区霞1-2-3

電話番号 082-257-5138  
ファックス番号 082-257-5136  
Eメール hkamata@hiroshima-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号 12028 )

1. 研究プロジェクト名と共同研究課題名	ストレス応答シグナルにおけるポリユビキチン鎖形成の役割			
2. 共同研究目的	酸化ストレスに応答した NF- $\kappa$ B の活性化におけるポリユビキチン鎖形成の分子機構と炎症応答における意義の解明			
3. 共同研究期間	平成24年4月1日 ~ 平成25年3月31日			
4. 共同研究組織				
氏名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(申請代表者) 鎌田英明 (分担研究者)	50	広島大学大学院医歯薬学総合研究科	准教授	本研究全般
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	分子細胞制御分野	氏名	徳永文稔

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

#### 6. 共同研究計画

TNF $\alpha$ などの炎症性サイトカインは、IKK $\beta$ キナーゼによるリン酸化を介して阻害タンパク質 I $\kappa$ B を分解し、NF- $\kappa$ B を活性化する。これに対して UV 照射や酸化ストレスの発生はリン酸化非依存性に I $\kappa$ B を分解して NF- $\kappa$ B を活性化する。我々は、リン酸化を介した NF- $\kappa$ B 活性化系と、リン酸化非依存性の NF- $\kappa$ B 活性化系を識別して解析できる遺伝子改変マウスを作製した。このマウスから細胞を取得し、二つの NF- $\kappa$ B 活性化機構でポリユビキチン鎖形成がどのように形成され、それぞれどのような役割を担うのかを解析する。徳永博士が開発された直鎖状ポリユビキチン鎖の解析システムをもちいて、酸化ストレスに応答した直鎖型ポリユビキチン鎖および K63 型ポリユビキチン鎖の細胞内における挙動と、ストレス応答シグナル系におけるポリユビキチン鎖の役割を解明する。

#### 7. 共同研究の成果

NF- $\kappa$ B の活性化はタンパク質のリン酸化やユビキチン化などのタンパク質の修飾により、多様な制御を受容するが、この修飾により NF- $\kappa$ B の活性化の強度や持続時間が決定される。とくにこの活性は IKK $\beta$  のキナーゼ活性の調節を介した制御を受容する。また NF- $\kappa$ B により遺伝子発現が誘導される Cyl $\delta$  や A20 などは、ポリユビキチン鎖に作用する事により IKK $\beta$  を抑制する事で NF- $\kappa$ B の活性化を負に制御する。本研究でこのようなポリユビキチン鎖の制御に加えて NF- $\kappa$ B 構成タンパク質の RelA の転写活性化ドメインが IKK $\beta$  の脱リン酸化を促進する事により NF- $\kappa$ B の活性を抑制することを見いだした。NF- $\kappa$ B はポリユビキチン鎖の制御に加えて IKK $\beta$  に対するホスファターゼ活性を制御する事により NF- $\kappa$ B に対するフィードバック制御が機能していることが判明した。

一方、TNF $\alpha$  の下流で形成されるポリユビキチン鎖による NF- $\kappa$ B の活性化が抑制されるとカスパーゼによるアポトーシスが惹起されるが、カスパーゼの活性化を抑制すると活性酸素の産生が誘導されてネクロプトーシスが引き起こされる。ネクロプトーシスの誘導に重要な機能を有するのが RIP1 と RIP3 だが、TNF $\alpha$  の刺激に応答したポリユビキチン鎖形成とカスパーゼの活性化を介して細胞内での RIP1 と RIP3 と発現レベルが制御を受容しており、ポリユビキチン鎖形成とカスパーゼの活性化が抑制された場合は RIP1 と RIP3 の細胞内レベルが減少することが見いだされた。その結果として細胞にはネクロプトーシス耐性の形質が付与されることが判明した。RIP1 と RIP3 の細胞内動態についてさらに解析を継続している

#### 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

1. Yusuke Nakatsu, Yuichiro Otani, Hideyuki Sakoda, Jun Zhang, Ying Guo, Hirofumi Okubo, Akifumi Kushiya, Midori Fujishiro, Takako Kikuch, Toshiaki Fukushima, Haruya Ohno, Yoshihiro Tsuchiya, Hideaki Kamata, Akiko Nagamachi, Toshiya Inaba, Fusanori Nishimura, Hideki Katagiri, Shin-ichiro Takahashi, Hiroki Kurihara, Takafumi Uchida, and Tomoichiro Asano\*. Role of Pin1 in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis in a rodent model. *Journal of Biological Chemistry*, 287; 44526–44535 (2012)
2. Kei Sakamoto, Yohko Hikiba, Hayato Nakagawa, Yoshihiro Hirata, Yoku Hayakawa, Hiroto Kinoshita, Wachiko Nakata, Kosuke Sakitani, Ryota Takahashi, Masao Akanuma, Hideaki Kamata, Shin Maeda\*. Promotion of DNA repair by nuclear IKK  $\beta$  phosphorylation of ATM in response to genotoxic stimuli. *Oncogene* (in press)
3. Sonoko Kumamoto, Akifumi Kushiya, Yusuke Nakatsu, Hideyuki Sakoda, Midori Fujishiro, Misaki Iwashita, Haruya Ohno, Jun Zhang, Ying Guo, Hiroyuki Aburatani, Hideaki Kamata, Fusanori Nishimura, and Tomoichiro Asano\*. Angiotensin receptor 1 blocker valsartan normalizes gene expression profiles of 3T3-L1 adipocytes altered by co-culture with LPS-treated RAW264.7 macrophages. *Obesity Research & Clinical Practice*, 6; e288–e297 (2012)
4. 鎌田英明「TNFに連関したシグナル系のレドックス制御と細胞死」第85回日本生化学会合同大会シンポジウム, 福岡, 2012. 12. 15.
5. 土谷佳弘, 金本麻裕, 菅野雅元, 浅野知一郎, 鎌田英明, IKK $\beta$ の脱リン酸化反応における転写因子RelAの関与, 第85回日本生化学会合同大会ワークショップ 福岡, 2012. 12. 16.
6. 金本麻裕, 土谷佳弘, 浅野知一郎, 鎌田英明, 「腫瘍壊死因子(TNF $\alpha$ )に応答した細胞死とRIP1とRIP3の発現変化」第85回日本生化学会合同大会 福岡, 2012. 12. 16.
7. 土谷佳弘, 金本麻裕, 菅野雅元, 浅野知一郎, 鎌田英明, Stress-induced NF- $\kappa$ B activation mediated by the nuclear IKK and cell death, 第35回日本分子生物学会, 福岡, 2012. 12. 13.