

## 熱ストレス応答による恒常性維持の機構

藤本 充章, 中井 彰

細胞内のタンパク質は温熱ストレスに極めて感受性が高く、容易に変性し凝集することで細胞毒性を示し細胞機能の異常を導く。細胞は、このようなタンパク質の変性に対応して、その恒常性を維持する機構を備えている。それが古くから知られている熱ショック応答であり、熱ショック転写因子 HSF によって主に転写のレベルで制御されている。最近の研究から、HSF 群が、個体発生と維持、老化と関連した細胞変性疾患、さらにはがんの発生や進展にも大きな役割を演じていることが分かってきた。本稿では、HSF 群による遺伝子発現制御について最近の知見をまとめ、HSF 群の生理機能とタンパク質ホメオスタシスの機構、あるいは細胞の分化増殖因子の発現制御機構との関連などについて概説する。

### 1. はじめに

細胞の活動は、ゲノムの情報をもとに合成された膨大な数のタンパク質の機能が正しく統御されることで営まれている。例えば、一つの肝臓細胞にはそれぞれ平均 100 万分子からなる約 1 万種類のタンパク質が存在していると推計されている。それらのタンパク質が、およそ 200 から 300 mg/ml の高濃度のタンパク質溶液の中で、特異的な相互作用によって正しい相手に作用できることは驚異的である。そのためには、タンパク質が正しくフォールディングして成熟した高次構造をとること、さらに合成や分解の制御により適正なタンパク質の量を保つことが重要である。このような過程は、タンパク質の恒常性、あるいは蛋タンパク質ホメオスタシスの維持の機構といわれる<sup>1)</sup>。細胞は、異常なタンパク質の蓄積を感知してこのホメオスタシスを維持する反応機構を備えている。それが細菌からヒトまで進化の過程で保存された熱ショック応答である。真核生物には小胞体内の異常タンパク質に対する応答も存在する

が、熱ショック応答とは異なる進化をたどってきたと考えられる。

熱ショック応答は古くから知られている現象であり、やはり進化の過程で保存された一群の熱ショックタンパク質の誘導を特徴とする。これらの Hsp70 を代表とする熱ショックタンパク質群は細胞内濃度が高く、全て分子シャペロンとして細胞内タンパク質のフォールディングを介助することが知られている。これらの熱ショックタンパク質群をコードするのが、いわゆる古典的な熱ショック遺伝子群である。古典的熱ショック遺伝子の発現制御は、タンパク質ホメオスタシスの維持に重要であるだけでなく、遺伝子発現の誘導モデルとしても精力的に研究されてきた。その発現を制御するのが熱ショック転写因子群 (HSFs) である<sup>2)</sup>。そのうち HSF1 が熱ショック応答による熱ショックタンパク質群の発現制御を担う。しかし、最近の研究から HSF 群が、古典的熱ショック遺伝子だけでなく、非常に多くの遺伝子群を協調的に制御することで生体の恒常性維持に働くことが分かってきた<sup>3)</sup>。本総説では、HSF 群による遺伝子発現制御について解説し、個体発生、老化と関連した疾患、そしてがんにおける役割について述べる。

山口大学大学院医学系研究科医化学分野 (〒755-8505  
山口県宇部市南小串 1-1-1)

Heat shock response and homeostasis

Mitsuaki Fujimoto, Akira Nakai (Department of Biochemistry and Molecular Biology, Yamaguchi University School of Medicine, Minami-Kogushi 1-1-1, Ube 755-8505, Japan)

## 2. HSF1 群による転写制御の分子機構

### 2.1 クロマチン制御による古典的熱ショック遺伝子の発現制御

古典的熱ショック遺伝子のうちでも最も良く研究されているのが Hsp70 の転写制御機構である。ストレスを受けていない細胞では、Hsp70 遺伝子の転写開始点の上流と下流合わせて数百塩基はヌクレオソームを形成しておらず、RNA ポリメラーゼ II (Pol II) が数十塩基下流で止まった状態にある。まず、熱ショックにより、単量体で存在していた HSF1 が Hsp90 などによる負の制御から外れることで三量体を形成する (図 1)<sup>2)</sup>。次に、HSF1 は、熱ショックエレメント (HSE) に結合して転写開始前複合体を呼び込むだけでなく、BRG1 と結合することで SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体を呼び込んで下流のヌクレオソーム構造を除き伸長反応を促進する<sup>4)</sup>。一度 HSE に結合した HSF1 は、安定に結合し続けることで Pol II のリサイクルを促していることが示されている<sup>5)</sup>。ストレスから解放されると転写の減衰が起こるが、その際に HSF1 の転写活性化ドメインに Hsp70 が結合してその活性を抑制することが知られている。その機構として、単純に転写活性化ドメインを隠すだけでなく、Hsp70 を介して転写共役因子 CoREST をリクルートする機構も示唆されている<sup>6)</sup>。

遺伝子下流のヌクレオソームの除去は、Pol II による転写効率に大きく影響する。Lisらは、その過程を詳細に解析し、熱ショック後、わずか 30 秒で最初のヌクレオソームの除去を認めた<sup>7)</sup>。この過程は、Pol II による転写の開始前であり、HSF1 の存在が必要である。この過程に必要な他の因子を探したところ、ポリ ADP リボースポリメラーゼ-1 (PARP-1) が必要であることが分かった。PARP-1 は、熱ショックによるシヨウジョウバエのパフ形成、ならびに Hsp70 の誘導に必要であることが知られている<sup>8)</sup>。また、哺乳類細胞では、PARP-1 がクロマチン凝集にかかわるヒストン H2A のバリエーション (macroH2A) とともに Hsp70 プロモーターに存在している<sup>9)</sup>。熱ショックにより、PARP-1 がプロモーターから離れることでクロマチン構造を変えて転写の脱抑制が働くと考えられている。

### 2.2 非コード RNA による熱ショック遺伝子発現の制御

近年、非コード RNA が、タンパク質からなる転写因子とともに転写の様々な過程を制御することが分かってきた<sup>10)</sup>。熱ショック応答の制御に関しても二つの重要な発見がなされた。

細胞に温熱ストレスがかかるとほとんどの mRNA の発現が減少することが知られている。熱ショックによって DNA 結合型に転換された HSF1 が一部の遺伝子に結合して転写を抑制する可能性が示されていた<sup>11)</sup>。ヒトのゲノム

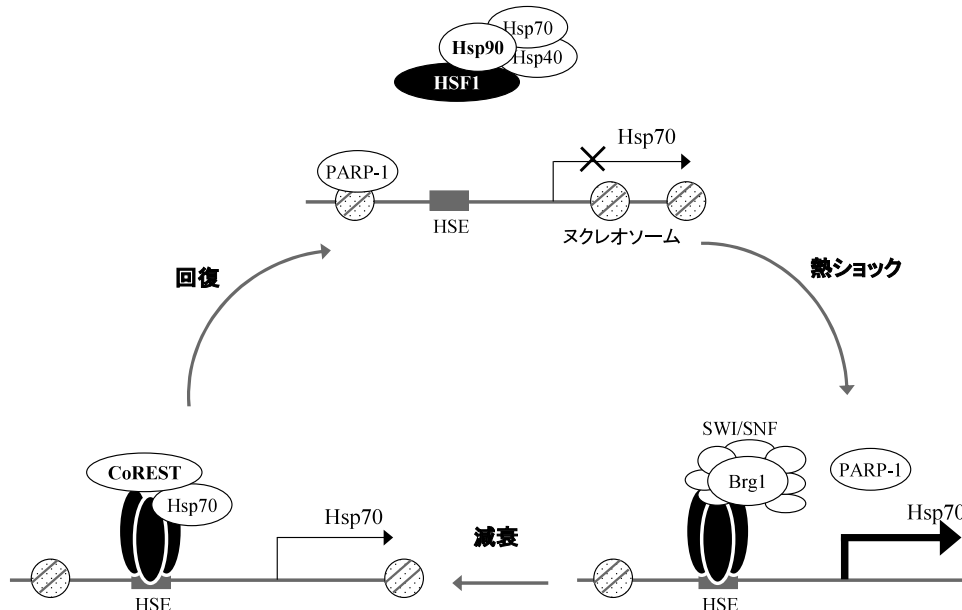


図 1 Hsp70 遺伝子の活性化と不活性化の過程

Hsp70 の転写開始点周囲は、ヌクレオソーム構造をとらない状態で維持されているが、さらにその近傍は PARP-1 によりクロマチン構造が凝集されている。この時、HSF1 は Hsp90 との相互作用により非活性型の単量体で存在する。熱ショックにより活性化された HSF1 が DNA に結合し、PARP-1 はクロマチンから離れる。それに伴い遺伝子下流のヌクレオソーム構造がなくなり、続いて Pol II による転写が開始する。転写反応の減衰の過程では、HSF1 に Hsp70 が再び結合し、それが CoREST をリクルートして転写が抑制される。さらに、Hsp90 の結合が三量体 HSF1 を単量体へと導く。

は、その半分以上の領域がタンパク質をコードしない反復配列からなるが、SINE (short interspersed element) とよばれる領域はゲノムの約10%を占め、その大部分が300塩基程度のAlu配列からなる。このAlu配列は、RNAポリメラーゼIIIによって転写され、熱ショックなどのストレスによりAlu RNAが顕著に誘導されることが知られていた<sup>12)</sup>。この誘導されたAlu RNAが、Pol IIに結合することで遺伝子のプロモーター上の転写前開始複体にリクルートされて、転写を抑制することが明らかとなった(図2)<sup>13)</sup>。SINE配列は生物種によって異なり、マウスでは主要なB1とB2が存在するが、Alu RNAとは構造の異なるB2 RNAのみが転写を抑制できる<sup>14)</sup>。このような転写の抑制機構は、ストレス存在下で不要なRNAを作らないという意味で、細胞の生存に重要な機構であると考えられる。

もう一つの非コードRNAの働きとして、HSF1の活性化型への転換を促進する役割が明らかになった。HSF1は、熱ショックタンパク質群と相互作用することで三量体形成が抑制されていると考えられている。特に、Hsp90の働きがこの過程に重要であるが、Hsp90はHsp70、Hsp40、p23などと複合体を形成してクライアントタンパク質に作用するので、一群のシャペロンタンパク質が三量体形成の抑制に関与しているといえる(図1)<sup>15)</sup>。Nudlerらのグループは、HSF1と翻訳伸長因子eEF1A、そして新しい非コードRNAであるHSR1 (heat shock RNA 1)の三者が、熱ショックにより複合体を形成することでHSF1の三量体形成を促進

することを見いだした<sup>16)</sup>。大腸菌熱ショック応答では、RNAポリメラーゼ複体の一つであるシグマ因子 $\sigma^{32}$ のmRNAが、温度センサーとして高温で構造を変えることで翻訳が促進されて熱ショック応答の制御に関わることが知られている<sup>17)</sup>。高等動物細胞でもRNAであるHSR1が、温度センサーとして構造を変えることでHSF1の三量体移行に関わっている可能性がある。

### 2.3 非古典的熱ショック遺伝子の発現制御

細胞に温熱ストレスを与えると、単に限られた数の古典的熱ショックタンパク質だけが誘導されるわけではない。熱ショックを受けた酵母では、全ゲノムの中で約3%の領域にHSF1が結合し、そのうちの半分以上を越える多くの遺伝子の発現が誘導される<sup>18,19)</sup>。哺乳類細胞においても、HSF1は多くの遺伝子のプロモーターに結合し、その半分以上の遺伝子は熱ショックによって転写誘導を受けることが知られている<sup>20,21)</sup>。一方、後述する個体レベルの解析から、HSF1だけでなくHSF2とHSF4も、発生や組織の維持の過程での遺伝子発現に寄与していることが明らかである。これら膨大な数からなる、非古典的熱ショック遺伝子、ならびにHSF群に制御される非熱ショック遺伝子の発現制御の機構はどのようなものであろうか。具体的には、HSF群が、ゲノムのどの領域に結合し、それらの結合がゲノムにどのような影響を及ぼしているのであろうか。さらに、HSF群の協調的な制御が存在するのであろうか。このような疑問に答えるための第一歩として、我々

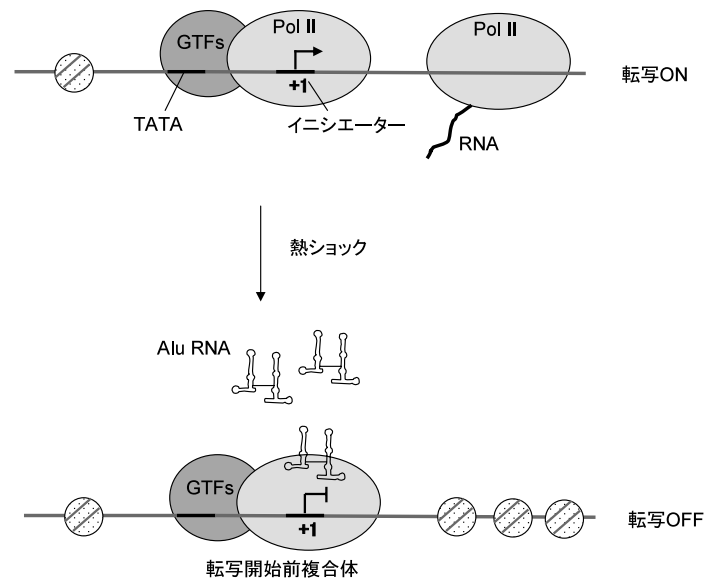
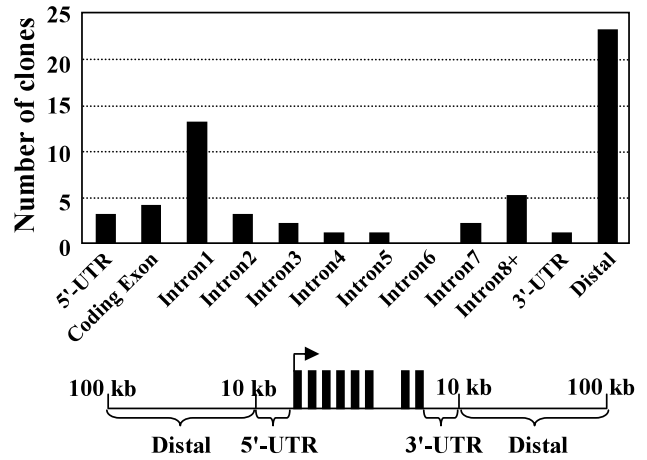


図2 Alu RNAによる構成的発現遺伝子の転写抑制

細胞に温熱ストレスがかかると、RNAポリメラーゼIIIによるAlu RNAの転写が誘導される。Alu RNAは、RNAポリメラーゼII (Pol II)と結合することでプロモーター上の転写開始前複体にリクルートされて、一般に構成的に発現している遺伝子群の転写を抑制する。Alu RNAはHsp70のプロモーター上にはリクルートされない。GTFsは基本転写因子群を示す。

は、わずか2種類の細胞からなる単純なレンズ組織をモデルとして、HSF群のゲノムへの結合領域とその周辺遺伝子群の詳細な解析を行った。

マウス胎生期のレンズでは三つのHSFが高発現しているが、HSF1とHSF2は出生後から極端に発現が低下し、HSF4の発現は成体に至るまで持続する。この発現に一致して、HSF4欠損マウスのレンズは生後に異常が出現する<sup>22)</sup>。我々は、生後2日目のレンズ上皮細胞株を作成してクロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析を行い、HSF4結合領域を同定した。解析する遺伝子領域の数は多い方が良いが、詳細な解析が可能にできるようにできるだけ少ない数で、なおかつ全体の傾向がつかめるであろう58結合領域に絞った<sup>23)</sup>。それらは、ほとんどが遺伝子のイントロン、あるいは遺伝子から10 kb以上はなれた領域に存在し、遺伝子の転写開始点から10 kb以内のプロモーターはわずかに5%程度であった (図3)。HSF4は、従来知られているnGAAn (nは任意)の繰り返し配列からなる熱ショックエレメント (HSE) に比較してより曖昧なnGnnnの繰り返し配列に *in vitro* で結合できる (図4)。実際に *in vivo* で同定された結合領域もほとんどがnGnnnの繰り返し配列であった。それにもかかわらず、胎生期にはそのうちの70%の領域にHSF1あるいはHSF2の結合を認めることから、HSF群のゲノムへの結合には何らかの安定化の機構が存在すると考えられる。



プロモーター近位 (<10 kb)	5%
エキソン、イントロン	53%
プロモーター遠位 (>10 kb)	40%

図3 HSF4のゲノム上の結合領域  
 レンズ組織でHSF4が結合する58結合領域を同定し、遺伝子構造に対する位置を模式的に示した。その半分はイントロンあるいはエキソンに存在し、予想に反してプロモーターへの結合はわずか5%しかなかった<sup>23)</sup>。

*in vitro* コンセンサス配列

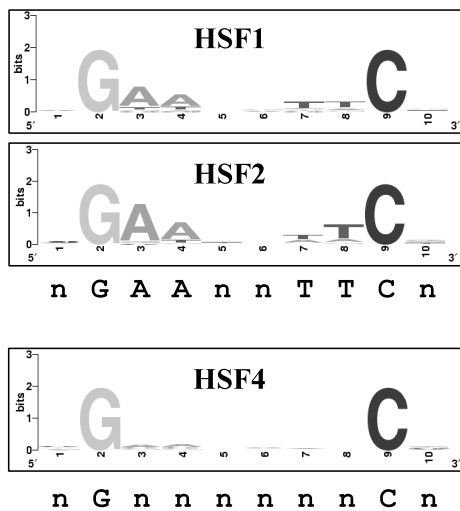
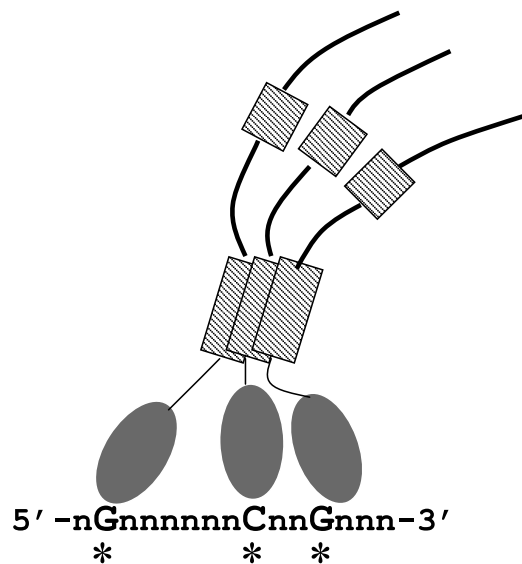


図4 HSFの結合配列

*in vitro* での結合のコンセンサス配列を示した<sup>23,48)</sup>。それぞれnGAAnあるいはnGnnnの3回以上の逆向き繰り返し配列。ただし、nGAAnが良く保存されていれば二つの繰り返しでも結合できることは結晶構造から明らかである<sup>49)</sup>。酵母HSF1の結合配列の多様性もこの単純なモデルで説明できるかもしれない<sup>50)</sup>。  
*in vivo* では、nGnnnの逆向き繰り返し配列であることがHSFの結合する最低限の条件である<sup>23)</sup>。

*in vivo* コンセンサス配列



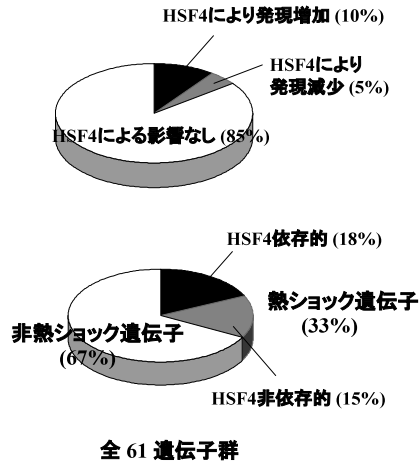


図5 HSF4 結合領域周辺の 61 遺伝子の発現発生過程 (上),あるいは熱ショック (下)における遺伝子発現と HSF4 の必要性を示した<sup>23)</sup>.

HSF4 の結合がクロマチン修飾に及ぼす役割を調べたところ,ほとんどの HSF4 結合領域のヒストン H3K9 のアセチル化,ならびに脱メチル化を促すことが分かった.このようなクロマチン修飾の変化は,HSF4 の結合領域の遺伝子,あるいはその近傍の遺伝子の一部の発現変化を伴っていた (図 5).さらに,HSF4 の結合領域,あるいはその近傍の遺伝子のうち,33%もの多くの遺伝子が熱ショックによって誘導を受け,その約半数が誘導に HSF4 を必要としていた.興味深いことに,いくつかの結合領域は,HSF4 欠損により熱ショックによる HSF1 の結合が減弱していた.つまり,HSF4 は発生過程での遺伝子発現とともに熱ショック応答に必須の役割を担うことが分かった<sup>23)</sup>.

一方,HSF2 は,HSF1 と相互作用して Hsp70 の活性化を促進する効果があることが分かっていた<sup>24)</sup>.さらに,くり返し配列からなるサテライト III DNA の転写産物である非コード RNA は熱ショックによって誘導を受け,その DNA には HSF1 と HSF2 が結合する<sup>25)</sup>.最近,この遺伝子の熱ショック誘導に HSF1 と HSF2 がともに必要であることが分かった<sup>26)</sup>.つまり,全ての HSF は熱ショック応答に重要な役割を担っているといえる.

#### 2.4 HSF1 による非熱ショック遺伝子の制御

我々は,HSF1 欠損マウスは抗原に曝されたあとの抗体産生,特に IgG1 と IgG2a の産生が低下していることを明らかにした<sup>27)</sup>.DNA マイクロアレイによる解析から,HSF1 欠損細胞は免疫応答に関与する多くの遺伝子発現が低下しており,その中でも脾臓細胞やマクロファージで B 細胞の成熟に重要な IL-6 の発現が低下していた.刺激によって IL-6 を産生する細胞では,通常でも IL-6 遺伝子プロモーターは部分的に開いた構造を保っていることが知られていた<sup>28)</sup>.我々は,HSF1 欠損細胞では,転写活性化因子 NF-κB や抑制因子 ATF3 を高発現しても IL-6 プロモ-

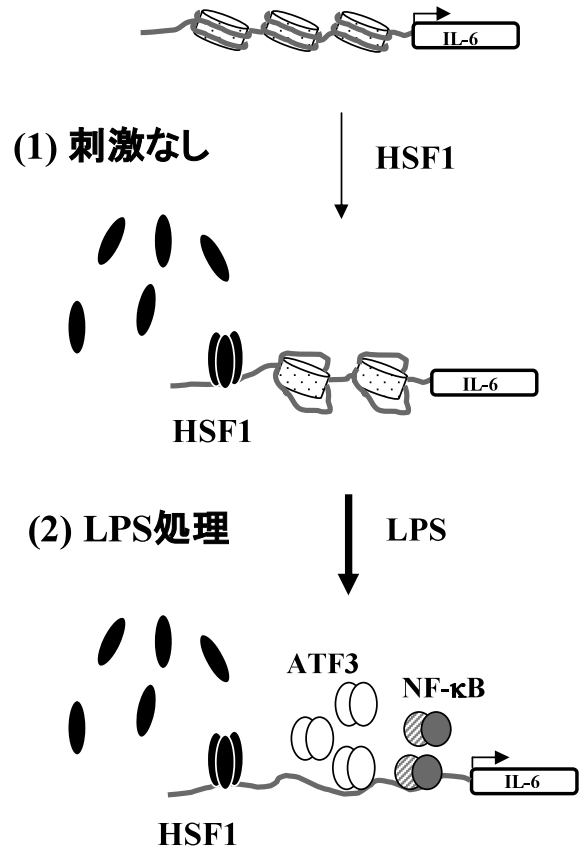


図6 HSF1 による IL-6 プロモーターのクロマチン構造の弛緩免疫系細胞では IL-6 プロモーターのクロマチン構造が部分的に開いた構造をとることが知られている.脾臓細胞,マクロファージ,そしてマウス胎児線維芽細胞では,わずか数%しかない三量体 HSF1 がプロモーターに結合してその役割を担う<sup>29)</sup>.HSF1 なしでは NF-κB や ATF3 の結合が著しく抑制される.

ターへ結合せず,リポ多糖 (LPS) 刺激してもそれらの結合は弱いことを明らかにした<sup>29)</sup>.HSF1 は,クロマチン構造を開いて転写活性化因子や転写抑制因子の結合を促すことで IL-6 遺伝子の転写制御に関与していたのである (図 6).このように,熱ショックによって DNA 結合型に転換することで機能を獲得すると考えられていた HSF1 は,ストレスを受けていない細胞においてもゲノムに結合して機能していることが明らかになった.

### 3. 個体発生ならびに組織の維持と HSF 群

#### 3.1 HSF 群の生理機能

ショウジョウバエは一つの HSF1 遺伝子のみを持ち,その変異体の解析から卵成熟と初期発生に必要なことが示された<sup>30)</sup>.高等動物細胞では HSF ファミリーを形成することからそれぞれが高次生命現象と関連した機能をもつことが推測されていた.現在までに,HSF 遺伝子改変マウスの解析から,様々な個体発生と組織の維持における役割が明らかになってきた (表 1)<sup>3)</sup>.さらに,HSF を介する

どのような遺伝子発現の回路が関与しているかが解析され、熱ショックタンパク質の発現、あるいは細胞分化に関与するサイトカインの発現が重要であることが分かってきた。脳神経細胞や生殖細胞における経路は未だ不明であるが、以下にこれら二つの経路の代表的な例について述べる。

### 3.2 HSF1によるシャペロン、特にHsp90を介する経路

もともと熱ショック応答に中心的な役割を担う哺乳類 HSF1 やニワトリ HSF3 は、その生化学的性質から通常の生育条件では機能しないのではないかと考えられていた。我々は、ニワトリ B リンパ球系 DT40 細胞の HSF1 と

HSF3 の両遺伝子欠損細胞を作成することで、初めて熱ショックにより活性化される HSF 群が構成的に熱ショックタンパク質の発現制御を行っていることを示した<sup>31)</sup>。この細胞では、熱ショックタンパク質の中でも特異的に Hsp90 $\alpha$  の細胞周期依存的な発現制御にかかわっていた。Hsp90 は分子シャペロンの中でも転写因子やキナーゼなどをクライアントとしており、その変異によって様々な形態異常をひき起こすことが知られており興味深い<sup>32)</sup>。実際に、Hsp90 発現の低下した細胞は、わずかな温度上昇でも Cdc2 キナーゼの不安定化を起こして細胞周期が止まり死んでゆく。その後、HSF1 欠損マウスの各組織の熱ショックタンパク質の発現が調べられ、組織によって個々の熱ショックタンパク質の制御が様々であることが分かった。しかし、最近、HSF1-Hsp90 $\alpha$  の特異的な経路が重要である生命現象が複数見つかったので紹介する。

我々は、HSF1 欠損マウスの形態学から鼻汁の貯留と脳室の拡大を見だし、その原因を、粘液、あるいは脳脊髄液の移動の異常であることをつきとめた (図 7)<sup>33)</sup>。線毛の動きを調べたところ、HSF1 欠損マウスの鼻腔や脳室、さらには気管や卵管の線毛運動の振幅と頻度がかかなり減弱していた。電子顕微鏡による観察により、高頻度で微小管からなる 9+2 配列の軸糸構造に異常を認めた。線毛は、その末端でチューブリンの重合と脱重合が盛んに行われているが、 $\alpha$  チューブリンと  $\beta$ iv チューブリンの量が著しく減少していた。チューブリンの重合と脱重合には分子シャペロンが重要な役割を演じていることから、それらの発現を調べたところ、特異的に Hsp90 の発現が線毛部位で著し

表 1 組織の形成と維持における HSF 群の役割

標的組織	関連する HSF	参考文献
脳	HSF1, HSF2	51-56)
レンズ	HSF1, HSF4	22, 57)
鼻	HSF1, HSF4	33, 37)
耳	HSF1	58, 59)
心臓	HSF1	60-62)
血管	HSF1	63)
肺	HSF1	64)
気管	HSF1	33)
胃	HSF1	65)
腸	HSF1	66)
精巣	HSF1, HSF2	51, 67-71)
卵管	HSF1	33)
卵巣	HSF2	51)
胎盤	HSF1	72)
受精卵	HSF1	34, 35)
B 細胞	HSF1	27)
NK 細胞	HSF1	73)

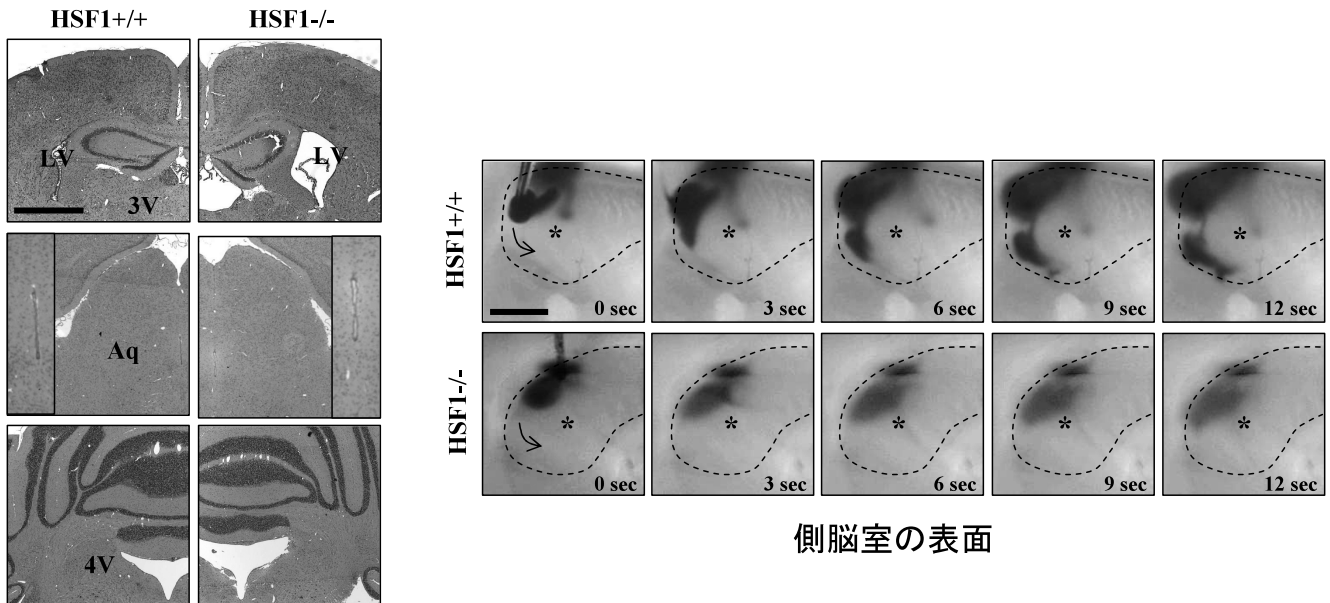


図 7 HSF1 欠損マウスの交通性の軽度水頭症

生後に中脳水道 (Aq) をはじめ全ての脳室 (LV, 3V, 4V) の拡大を認める (左)<sup>33)</sup>。正常マウスの側脳室部分を PBS に浸し、インクを乗せると秒単位で決まった方向にインクが運ばれる (右)。一方、HSF1 欠損マウスではインクの移動がない。

く減少していることが分かった。実際に、Hsp90はチュープリンの重合を促進することも明らかとなった。つまり、HSF1-Hsp90の経路は、生後の線毛運動の維持に必要であることが明らかとなった<sup>33)</sup>。一方、HSF1遺伝子の欠損した雌マウスの卵は受精しても細胞分裂の異常から卵割が進まないことが知られていた<sup>34)</sup>。HSF1欠損受精卵の解析から、Hsp90αの特異的減少と、それに伴うCdc2キナーゼとMAPKキナーゼの活性低下が原因であることが示唆された<sup>35)</sup>。HSF1-Hsp90の経路は、シャペロン経路の中でも細胞間でよく保存された重要なものと考えられる。

### 3.3 HSF群によるサイトカインを介する経路

ショウジョウバエのHSF1変異体での卵成熟の異常が熱ショックタンパク質の発現異常を伴っていないことから、当初から熱ショックタンパク質以外の経路が重要であることが推測されていた<sup>30)</sup>。サイトカインの発現制御の経路は、HSF4欠損マウスのレンズの解析から明らかになった。レンズ細胞は表面の一層の上皮細胞、そしてその細胞が赤道面で分化した線維細胞からなる。HSF4欠損レンズは、レンズ線維細胞が膨化するとともに、その元になる上皮細胞の過剰増殖と成熟前の分化を特徴としていた<sup>22)</sup>。興味深いことに、この上皮細胞の分化にかかわる線維芽細胞増殖因子4 (FGF-4) や FGF-7を含む多くのトランスジェニックマウスが作成されており、ほとんど同じ表現系であることが分かった<sup>36)</sup>。HSF4欠損レンズを調べた所、確かにHSF4欠損レンズにおいてFGF-1、FGF-4、そしてFGF-7の発現が上皮細胞で亢進していた。さらに、FGF-7のプロモーターにはHSF4のみならずHSF1も結合し、互いに拮抗した作用を行っていた。その後、嗅神経系細胞におけるHSF1-LIF<sup>37)</sup>、そして前述したB細胞分化におけるHSF1-IL-6<sup>27)</sup>などの経路がそれぞれの細胞分化に重要な役割を担っていることが明らかとなっている。同時に、HSFが欠損するこれらの組織では複数の熱ショックタンパク質の発現の異常も伴っており、細胞内シャペロンのバランスの異常によってシグナル伝達にも異常がある可能性がある。

### 4. タンパク質ホメオスタシスの破綻と老化に関連した病気

個体発生や老化の過程では、新しいタンパク質が合成され、ミスフォールドしたタンパク質が蓄積するため、タンパク質ホメオスタシスを維持する熱ショック応答の機構が重要となる。線虫を用いた実験により、タンパク質を正しくフォールディングさせる活性を上げるHSF1は寿命を著しく延長すること、逆に寿命を延長させるDAF-16 (FOXO転写因子) は異常タンパク質の凝集体形成を促進することで細胞毒性を軽減することが分かっている<sup>38,39)</sup>。さらに、タンパク質の凝集により毒性を発揮するパーキンソン病、ハンチントン病、筋硬直性側索硬化症、そしてアルツハイ

マー病などの線虫やショウジョウバエモデルではHSF1が病態改善に大きな効果があることが明らかである<sup>40)</sup>。

異常に伸長したグルタミン鎖を持つGFP融合タンパク質 (Q81-GFP) をHeLa細胞とPC12細胞に発現させるとQ81-GFPタンパク質は細胞内凝集体を形成して細胞毒性を発揮し、細胞は死に至る。我々はこの実験系を用いて、活性型に変異させたHSF1の発現が凝集体の形成と細胞死を強く抑制することを示した<sup>41)</sup>。その凝集体抑制活性は、熱ショックタンパク質群の活性と比較しても2倍程度強い。さらに、線虫で示されているようにマウスにおいても病態の改善に強い効果があるかを調べた。ポリグルタミン病モデルマウスR6/2は、ヒトの患者同様にポリグルタミンタンパク質を脳だけでなく全身に発現し、16週齢までには死に至る。これまでにHsp70トランスジェニックマウスと交配させても大きな病態の改善を示さず、分子シャペロンの発現亢進には抵抗性であると考えられていた<sup>42)</sup>。ところが、我々の作成したHSF1トランスジェニックマウスと交配させることによって筋組織での凝集体形成の抑制、ならびに2週間の寿命の延長を認めた。我々の結果は、HSF1がポリグルタミン病マウスモデルでも病態改善に強い効果を持つことを示している<sup>41)</sup>。

タンパク質の構造異常が伝播することが知られているプリオン病マウスモデルでもHSF1を欠損させることでその効果が調べられている。HSF1の欠損は病気の発症時期には影響ないが、寿命を著しく短縮した<sup>43)</sup>。これまで、線虫、ショウジョウバエ、そしてマウスもモデルは全てHSF1がタンパク質ホメオスタシスの維持に強い影響を持つことを示しているが、その分子機構は熱ショックタンパク質群の発現制御で説明されている。HSF1による効果が熱ショックタンパク質の発現制御だけでは説明できないことから、その他にも重要な経路があると考えられる。

### 5. HSF1とがん

がん細胞はタンパク質ホメオスタシスを維持する能力が高いと考えられている。多くのがん細胞で熱ショックタンパク質の発現が亢進し、逆に、がん細胞は正常な細胞と比較して熱ショックタンパク質の発現の抑制に感受性が高い<sup>44)</sup>。この性質から、Hsp90阻害剤ががんに対する第Ⅱ相の臨床試験に進んでいる<sup>45)</sup>。さらに、HSF1は、がんの発生と進展に大きな効果を持つことが明らかになった。HSF1欠損マウスでは、薬剤による皮膚がんやp53欠損によるリンパ腫の形成がほとんど起こらない<sup>46,47)</sup>。また、多くのがん細胞の増殖は一過性にHSF1をノックダウンさせると著しく抑制された。がんにおけるHSF1の役割の研究は始まったばかりで、今後、その分子機構を含めて多くの研究が展開されることが期待される。

## 6. おわりに

熱ショック転写因子群の遺伝子改変マウスの作成によりそれらの個体発生と維持における役割がほぼ明らかとなった(表1)。同時に、様々なストレスと関連した病態にHSF群が重要な役割を演じていることも明らかとなってきた。しかし、HSFがどのような機構でこれほど多様な生理機能を担うのか明らかではない。我々は、主にストレスと密接に関連した感覚器系の維持には、HSF群を介した熱ショックタンパク質群、ならびに細胞増殖と分化に関わるサイトカイン群の発現が関与していることを明らかにした。しかし、HSF群の結合するゲノム領域はさらに膨大で、クロマチン修飾に関わっていることも明らかである。これらの結果が示唆することは、HSF群が単に熱ショックタンパク質の誘導を介してタンパク質ホメオスタシスの制御に関わっているだけではないということであろう。おそらく、HSF群は、ストレスを受けていない状態でもたえずクロマチンをいたるところで修飾し、タンパク質変性を感知すると膨大な数の遺伝子発現を制御するのであろう。最近では、細胞変性疾患だけでなく、がんや代謝性疾患においてもHSF群が大きな効果を持つことが明らかになってきている。生体の恒常性維持においてHSF群の担う役割についてはまだまだ興味が尽きない。

一方で、HSF1がタンパク質変性を感知する分子機構は十分に理解されていない。図1で示したように、HSF1の制御として熱ショックタンパク質によるフィードバック制御のモデルが良く知られているが、説明できない現象も多い。HSF1と相互作用する分子は多く報告されているが、その制御に重要であるものは明らかではない。HSF1の活性を促進する非コードRNAのHSR1を含めて今後の解析に期待したい。

## 文 献

- Balch, W.E., Morimoto, R.I., Dillin, A., & Kelly, J.W. (2008) *Science*, **319**, 916-919.
- 藤本充章, 井上幸江, 中井 彰 (2004) *生化学*, **76**, 419-428.
- 中井 彰, 藤本充章, 井上幸江 (2007) *実験医学*, **25**, 1547-1553.
- Corey, L.L., Weirich, C.S., Benjamin, I.V., & Kingston, R.E. (2003) *Genes Dev.*, **17**, 1392-1401.
- Yao, J., Munson, K.M., Webb, W.W., & Lis, J.T. (2006) *Nature*, **442**, 1050-1053.
- Gómez, A.V., Galleguillos, D., Maass, J.C., Battaglioli, E., Kukulijan, M., & Andrés, M.E. (2008) *Mol. Cell*, **31**, 222-231.
- Petes, S.J. & Lis, J.T. (2008) *Cell*, **134**, 74-87.
- Tulin, A. & Spradling, A. (2003) *Science*, **299**, 560-562.
- Ouararhni, K., Hadj-Slimane, R., Ait-Si-Ali, S., Robin, P., Miettinen, F., Harel-Bellan, A., Dimitrov, S., & Hamiche, A. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 3324-3336.
- Goodrich, J.A. & Kugel, J.F. (2006) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 612-616.
- Westwood, J.T., Clos, J., & Wu, C. (1991) *Nature*, **353**, 822-827.
- Liu, W.M., Chu, W.M., Choudary, P.V., & Schmid, C.W. (1995) *Nucleic Acids Res.*, **23**, 1758-1765.
- Mariner, P.D., Walters, R.D., Espinoza, C.A., Drullinger, L.F., Wagner, S.D., Kugel, J.F., & Goodrich, J.A. (2008) *Mol. Cell*, **29**, 499-509.
- Espinoza, C.A., Allen, T.A., Hieb, A.R., Kugel, J.F., & Goodrich, J.A. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 822-829.
- Morimoto, R.I. (1998) *Genes Dev.*, **12**, 3788-3796.
- Shamovsky, I., Ivannikov, M., Kandel, E.S., Gershon, D., & Nudler, E. (2006) *Nature*, **440**, 556-560.
- Morita, M.T., Tanaka, Y., Kodama, T.S., Kyogoku, Y., Yanagi, H., & Yura, T. (1999) *Genes Dev.*, **13**, 655-665.
- Hahn, J.S., Hu, Z., Thiele, D.J., & Iyer, V.R. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 5249-5256.
- Hu, Z., Killion, P.J., & Iyer, V.R. (2007) *Nat. Genet.*, **39**, 683-687.
- Trinklein, N.D., Murray, J.I., Hartman, S.J., Botstein, D., & Myers, R.M. (2004) *Mol. Biol. Cell*, **15**, 1254-1261.
- Page, T.J., Sikder, D., Yang, L., Pluta, L., Wolfinger, R.D., Dodadek, T., & Thomas, R.S. (2006) *Mol. Biosyst.*, **12**, 627-639.
- Fujimoto, M., Izu, H., Seki, K., Fukuda, K., Nishida, T., Yamada, S., Kato, K., Yonemura, S., Inouye, S., & Nakai, A. (2004) *EMBO J.*, **23**, 4297-4306.
- Fujimoto, M., Oshima, K., Shinkawa, T., Wang, B., Inouye, S., Hayashida, N., Takii, R., & Nakai, A. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 29961-29970.
- Östling, P., Björk, J.K., Roos-Mattjus, P., Mezger, V., & Sistonen, L. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 7077-7086.
- Jolly, C., Metz, A., Govin, J., Vigneron, M., Turner, B.M., Khochbin, S., & Vourc'h, C. (2004) *J. Cell Biol.*, **164**, 25-33.
- Sandqvist, A., Björk, J.K., Akerfelt, M., Chitkova, Z., Grichine, A., Vourc'h, C., Jolly, C., Salminen, T.A., Nymalm, Y., & Sistonen, L. (2009) *Mol. Biol. Cell*, **20**, 1340-1347.
- Inouye, S., Izu, H., Takaki, E., Suzuki, H., Shirai, M., Yokota, Y., Ichikawa, H., Fujimoto, M., & Nakai, A. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 38701-38709.
- Ramirez-Carrozzi, V.R., Nazarian, A.A., Li, C.C., Gore, S.L., Sridharan, R., Imbalzano, A.N., & Smale, S.T. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 282-296.
- Inouye, S., Fujimoto, M., Nakamura, T., Takaki, E., Hayashida, N., Hai, T., & Nakai, A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 33210-33217.
- Jedlicka, P., Mortin, M.A., & Wu, C. (1997) *EMBO J.*, **16**, 2452-2462.
- Nakai, A. & Ishikawa, T. (2001) *EMBO J.*, **20**, 2885-2895.
- Queitsch, C., Sangster, T.A., & Lindquist, S. (2002) *Nature*, **417**, 618-624.
- Takaki, E., Fujimoto, M., Nakahara, T., Yonemura, S., Miyata, Y., Hayashida, N., Yamamoto, K., Vallee, R.B., Mikuriya, T., Sugahara, K., Yamashita, H., Inouye, S., & Nakai, A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 37285-37292.
- Christians, E., Davis, A.A., Thomas, S.D., & Benjamin, I.J. (2000) *Nature*, **407**, 693-694.
- Metchat, A., Akerfelt, M., Bierkamp, C., Delsinne, V., Sistonen, L., Alexandre, H., & Christians, E.S. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 9521-9528.



- 36) Lovicu, F.J. & Overbeek, P.A. (1998) *Development*, **125**, 3365-3377.
- 37) Takaki, E., Fujimoto, M., Sugahara, K., Nakahari, T., Yone-mura, S., Tanaka, Y., Hayashida, N., Inouye, S., Takemoto, T., Yamashita, H., & Nakai, A. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 4931-4937.
- 38) Hsu, A.L., Murphy, C.T., & Kenyon, C. (2003) *Science*, **300**, 1142-1145.
- 39) Morley, J.F. & Morimoto, R.I. (2004) *Mol. Biol. Cell*, **15**, 657-664.
- 40) Morimoto, R.I. (2008) *Genes Dev.*, **22**, 1427-1438.
- 41) Fujimoto, M., Takaki, E., Hayashi, T., Kitaura, Y., Tanaka, Y., Inouye, S., & Nakai, A. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 34908-34916.
- 42) Hay, D.G., Sathasivam, K., Tobaben, S., Stahl, B., Marber, M., Mestrlil, R., Mahal, A., Smith, D.L., Woodman, B., & Bates, G. P. (2004) *Hum. Mol. Genet.*, **13**, 1389-1405.
- 43) Steele, A.D., Hutter, G., Jackson, W.S., Heppner, F.L., Borkowski, A.W., King, O.D., Raymond, G.J., Aguzzi, A., & Lindquist, S. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**, 13626-13631.
- 44) Whitesell, L. & Lindquist, S.L. (2005) *Nat. Rev. Cancer*, **5**, 761-772.
- 45) www.clinicaltrials.gov.
- 46) Dai, C., Whitesell, L., Rogers, A.B., & Lindquist, S. (2007) *Cell*, **130**, 1005-1018.
- 47) Min, J.N., Huang, L., Zimonjic, D.B., Moskophidis, D., & Mivechi, N.F. (2007) *Oncogene*, **26**, 5086-5097.
- 48) Kroeger, P.E. & Morimoto, R.I. (1994) *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 7592-7603.
- 49) Tateishi, Y., Ariyoshi, M., Igarashi, R., Hara, H., Mizuguchi, K., Seto, A., Nakai, A., Kokubo, T., Tochio, H., & Shirakawa, M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 2435-2447.
- 50) Sakurai, H. & Takemori, Y. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 13334-13341.
- 51) Kallio, M., Chang, Y., Manuel, M., Alastalo, T.P., Rallu, M., Gitton, Y., Prikkala, L., Loones, M.T., Paslaru, L., Larney, S., Hiard, S., Morange, M., Sistonen, L., & Mezger, V. (2002) *EMBO J.*, **21**, 2591-2601.
- 52) McMillan, D.R., Christians, E., Forster, M., Xiao, X., Connell, P., Plumier, J.C., Zuo, X., Richardson, J., Morgan, S., & Benjamin, I.J. (2002) *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 8005-8014.
- 53) Wang, G., Zhang, J., Moskophidis, D., & Mivechi, N.F. (2003) *Genesis*, **36**, 48-61.
- 54) Santos, S.D. & Saraiva, M.J. (2004) *Neuroscience*, **126**, 657-663.
- 55) Chang, Y., Ostling, P., Akerfrlt, M., Trouillet, D., Rallu, M., Gitton, Y., Fatimy, R.E., Fradeau, V., Crom, S.L., Morange, M., Sistonen, L., & Mezger, V. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 836-847.
- 56) Homma, S., Jin, X., Wang, G., Tu, N., Min, J., Yanasak, N., & Mivechi, N.F. (2007) *J. Neurosci.*, **27**, 7974-7986.
- 57) Min, J.N., Zhang, Y., Moskophidis, D., & Mivechi, N.F. (2004) *Genesis*, **40**, 205-217.
- 58) Sugahara, K., Inouye, S., Izu, H., Kato, Y., Katsuki, K., Takemoto, T., Shimogori, H., Yamashita, H., & Nakai, A. (2003) *Hear. Res.*, **182**, 88-96.
- 59) Fairfield, D.A., Lomax, M.I., Dootz, G.A., Chen, S., Galecki, A.T., Benjamin, I.J., Dolan, D.F., & Altschuler, R.A. (2005) *J. Neurosci.*, **81**, 589-596.
- 60) Yan, L.J., Christians, E.S., Liu, L., Xiao, X., Sohal, R.S., & Benjamin, I.J. (2002) *EMBO J.*, **21**, 5164-5172.
- 61) Zou, Y., Zhu, W., Sakamoto, M., Qin, Y., Akazawa, H., Toko, H., Mizukami, M., Takeda, N., Minamino, T., Takano, H., Nagai, T., Nakai, A., & Komuro, I. (2003) *Circulation*, **108**, 3024-3030.
- 62) Sakamoto, M., Minamino, T., Toko, H., Kayama, Y., Zou, Y., Sano, M., Takaki, E., Aoyagi, T., Tojo, K., Tajima, N., Nakai, A., Aburatani, H., & Komuro, I. (2006) *Circ. Res.*, **99**, 1411-1418.
- 63) Uchiyama, T., Atsuta, H., Utsugi, T., Oguro, M., Hasegawa, A., Nakamura, T., Nakai, A., Nakata, M., Maruyama, I., Tomura, H., Okajima, F., Tomono, S., Kawazu, S., Nagai, R., & Kurabayashi, M. (2007) *Atherosclerosis*, **190**, 321-329.
- 64) Wirth, D., Bureau, F., Melotte, D., Christians, E., & Gustin, P. (2004) *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **287**, 953-961.
- 65) Tanaka, K., Tsutsumi, S., Arai, Y., Hoshino, T., Suzuki, K., Takaki, E., Ito, T., Takeuchi, K., Nakai, A., & Mizushima, T. (2007) *Mol. Pharmacol.*, **71**, 985-993.
- 66) Tanaka, K., Namba, T., Arai, Y., Fujimoto, M., Adachi, H., Sobue, G., Takeuchi, K., Nakai, A., & Mizushima, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 23240-23252.
- 67) Nakai, A., Suzuki, M., & Tanabe, M. (2000) *EMBO J.*, **19**, 1545-1554.
- 68) Izu, H., Inouye, S., Fujimoto, M., Shiraishi, K., Naitoh, K., Sugahara, K., & Nakai, A. (2004) *Biol. Reprod.*, **70**, 18-24.
- 69) Wang, G., Ying, Z., Jin, X., Tu, N., Zhang, Y., Phillips, M., Moskophidis, D., & Mivechi, N.F. (2004) *Genesis*, **38**, 66-80.
- 70) Hayashida, N., Inouye, S., Fujimoto, M., Tanaka, Y., Izu, H., Takaki, E., Ichikawa, H., Rho, J., & Nakai, A. (2006) *EMBO J.*, **25**, 4773-4783.
- 71) Salmand, P.A., Jungas, T., Fernandez, M., Conter, A., & Christians, E.S. (2008) *Biol. Reprod.*, **79**, 1092-1101.
- 72) Xiao, X., Zuo, X., Davis, A.A., McMillan, D.R., Curry, B.B., Richardson, J.A., & Benjamin, I.J. (1999) *EMBO J.*, **18**, 5943-5952.
- 73) Zheng, H. & Li, Z. (2004) *J. Immunol.*, **173**, 5929-5933.