

- Iwanaga, S. (1993) *Methods Enzymol.*, **223**, 365–378.
- 9) Fox, J.W. & Serrano, S.M. (2005) *Toxicon*, **45**, 969–985.
- 10) Masuda, S., Hayashi, H., & Araki, S. (1998) *Eur. J. Biochem.*, **253**, 36–41.
- 11) Orth, P., Reichert, P., Wang, W., Prosser, W.W., Yarosh-Tomaine, T., Hammond, G., Ingram, R.N., Xiao, L., Mirza, U. A., Zou, J., Strickland, C., Taremi, S.S., Le, H.V., & Madison, V. (2004) *J. Mol. Biol.*, **335**, 129–137.
- 12) Fujii, Y., Okuda, D., Fujimoto, Z., Horii, K., Morita, T., & Mizuno, H. (2003) *J. Mol. Biol.*, **332**, 1115–1122.
- 13) Janes, P.W., Saha, N., Barton, W.A., Kolev, M.V., Wimmer-Kleikamp, S.H., Nievergall, E., Blobel, C.P., Himanen, J.P., Lackmann, M., & Nikolov, D.B. (2005) *Cell*, **123**, 291–304.

武田 壮一

(国立循環器病センター研究所心臓生理部)

Domain structure of ADAM family proteins  
Soichi Takeda (Department of Cardiac Physiology, National Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishiro-dai, Suita, Osaka 565-8565, Japan)

## 小胞体ストレス (ER ストレス) シグナリングの膵臓β細胞における役割

### はじめに

小胞体は分泌型タンパク質の生合成に重要な細胞内小器官である。新規に産生された分泌型タンパク質は小胞体内で正しい立体構造に折りたたまれて、初めてその生理学的な機能を果たすことができる。この過程は「フォールディング」と呼ばれる。膵β細胞で産生され分泌されるインスリンは、β細胞の小胞体でフォールディングを受ける主要なタンパク質である。小胞体におけるフォールディングは、様々な環境要因や遺伝的要因によって妨げられる可能性がある。その結果、異常な構造のタンパク質が蓄積し、小胞体内の恒常性が損なわれることは、小胞体ストレス (ER ストレス) と定義されている<sup>1)</sup>。近年、小胞体ストレスが、糖尿病におけるβ細胞の機能障害、細胞死に重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。しかしながら、小胞体ストレスシグナリングのβ細胞における役割が進むにつれ、このシグナリングが実際はβ細胞の正常な機能維持に重要な役割を果たしており、病的にシグナルの活性化度が高まった時に初めて、β細胞死、機能障害が起きることが明らかになってきた。本稿では、β細胞における小胞体ストレスシグナリングの生理学的、病理学的な役割

について概説する。

### 1. 小胞体ストレスシグナリング (ER stress signaling)

小胞体はフォールディングを行うシステムを有すると同時に、フォールディングの異常を監視し、異常タンパク質を取り除くシステムもあわせ持っている。この小胞体ストレスに適應するシステムは「unfolded protein response (UPR)」と呼ばれる。UPRは三つの要素から成り立っている。(1)フォールディングに必要な遺伝子の転写を上げること、(2)タンパク質合成を抑制すること、(3)異常タンパク質を分解すること、の三つである。これらの適應反応は、小胞体に存在するキナーゼ IRE1 (inositol requiring 1), PERK (protein kinase RNA-like ER kinase) によって主に制御されている。また、それに加えて、ATF6, OASIS, CREBH といった小胞体内に存在する分子が、IRE1, PERK によって制御されるシグナリングを強化していると考えられている。それでは、β細胞における小胞体ストレスシグナリングの生理学的な役割はどのようなものであろう。

### 2. 小胞体ストレスシグナリングのβ細胞における生理学的な役割

膵β細胞は、インスリンの合成、分泌に特化した細胞であり、血糖値を制御するのに重要な役割を果たしている。食後高血糖時には、血糖値を低下させるためにβ細胞はインスリンを分泌するが、それと同時に細胞内でのインスリン合成も活性化される。小胞体は、このインスリン合成において重要な役割を果たしている。インスリンの前駆体であるプレプロインスリンがまず細胞質で翻訳合成され、それとほぼ同時に、このプレプロインスリンは小胞体内に運びこまれる。この際に、プレプロインスリンは、プロインスリンへと変わる。小胞体内で、プロインスリンは正しい立体構造へと折りたたまれる。未熟な立体構造をしていたプロインスリンは、三つのS-S結合が正しく形作られ、正しい立体構造を獲得することで、成熟したプロインスリンに生まれ変わる。正しい形に折りたたまれたプロインスリンはさらにゴルジ体を経て分泌顆粒へと送られ、高血糖時に細胞外へと分泌される。ヒトの血糖値を正常な値に保つため、β細胞内でのインスリン合成は非常に精密に制御されているが、小胞体ストレスシグナリングは、インスリン合成の制御において重要な役割を果たしている。小胞体ストレスに対する適應反応である UPR における最も重要な二つの酵素 IRE1 および PERK は、膵ランゲルハ

ンス島での発現が非常に高いことが分かっている。

### (1) $\beta$ 細胞における IRE1 の役割

IRE1 は小胞体に存在する膜貫通型の酵素である。IRE1 は小胞体ストレスによってリン酸化を受け、活性化される。活性化型の IRE1 は、大きく分けて二つのシグナリングを活性化する。一つは、転写因子である XBP-1 の活性化。もう一つはストレスキナーゼである JNK の活性化である<sup>2,3)</sup> (図 1)。XBP-1 はストレス状況下において、タンパク質のフォールディングを助ける酵素や、フォールディングに異常のあるタンパク質の破壊に重要な酵素の発現上昇に重要な役割を果たしている。その一方、JNK は、強いストレス状況下において細胞死を誘導する役割を有していると考えられている<sup>4)</sup>。

ほ乳類は 2 種類の IRE1, IRE1 $\alpha$  と IRE1 $\beta$ , を有している。IRE1 $\alpha$  はすべての臓器に発現が見られるが、特に膵臓、肝臓、胎盤での発現が高い。IRE1 $\beta$  は、腸管のみに発現が見られる。我々のグループは、IRE1 $\alpha$  の活性化度が特に膵臓の  $\beta$  細胞で高く、インスリンの生合成に重要な役割を果たしていることを発見した<sup>5)</sup>。

食後には血糖値が上がるとともにインスリンの合成が上昇するが、IRE1 $\alpha$  の活性もこれらと同時に上昇する。そして、IRE1 に対する RNAi や、IRE1 の活性化を妨害する遺

伝子 (リン酸化を受けない IRE1 は dominant-negative として働く) を発現させると、インスリンの合成がストップする。もっと正確に言えば、未熟なプロインスリンの成熟したプロインスリンへの成熟がストップしてしまう。つまり、IRE1 $\alpha$  は、インスリンの合成に欠かせない酵素であることを明らかにした。IRE1 $\alpha$  は、その他にもプロインスリンの成熟、フォールディングに重要な酵素の発現を上昇させる。これらの酵素は、ERO1, WFS1 と呼ばれる小胞体に存在する酵素である (図 2)。興味深いことに、WFS1 の遺伝子異常は小胞体ストレスによって、Wolfram 症候群と呼ばれる小児糖尿病、神経変性疾患を引き起こすことが知られている。

なぜ膵臓の  $\beta$  細胞では、異常なタンパク質の処理に重要な酵素である IRE1 が、プロインスリンの合成にとって重要なのであろうか? 膵臓の  $\beta$  細胞ではインスリンの分泌や、合成は、細胞にとって大変なストレスであることが知られている。特に、食後に大量のインスリンを合成しなくてはならない時などはなおさらである。また、2 型の糖尿病の患者においては、高血糖をおぎなうために、 $\beta$  細胞が正常以上にインスリンを合成していることが知られている。そのような状況では、 $\beta$  細胞内に異常な形のインスリンが生じるなどのストレスが起きることが十分考えられ

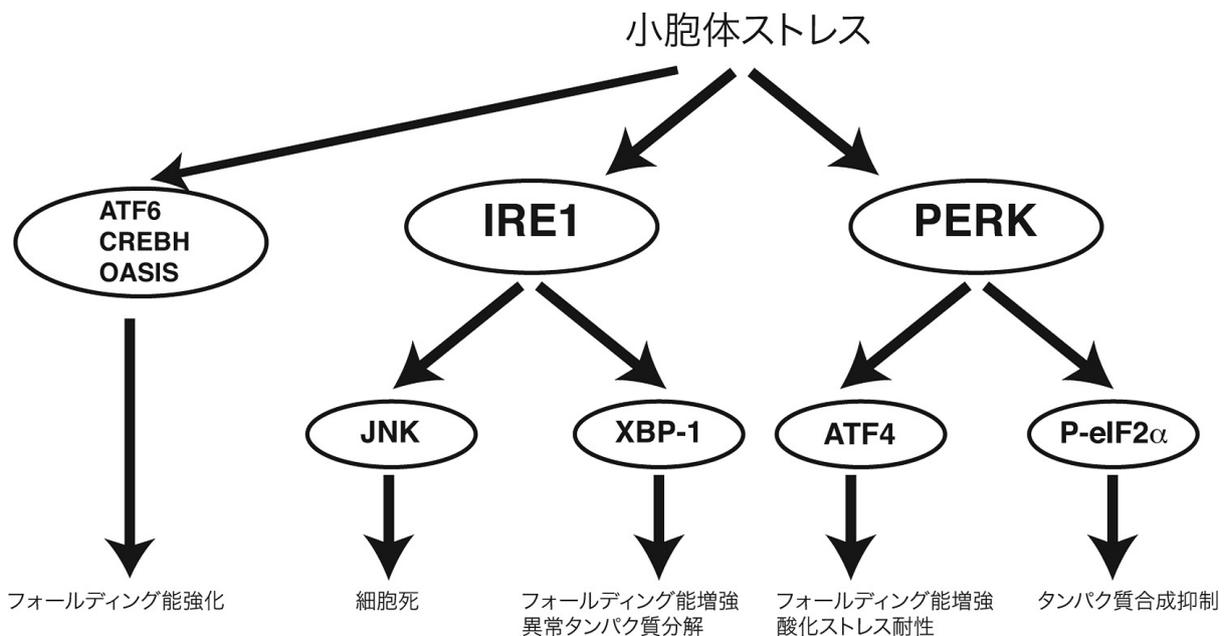


図 1 小胞体ストレスシグナリング

小胞体ストレス状況下では、ストレスに対抗するために適応反応が活性化される。この反応は、小胞体に存在するキナーゼ IRE1, PERK によって制御されている。また、それに加えて、ATF6, OASIS, CREBH といった小胞体内に存在する分子が、IRE1, PERK によって制御されるシグナリングを強化している。

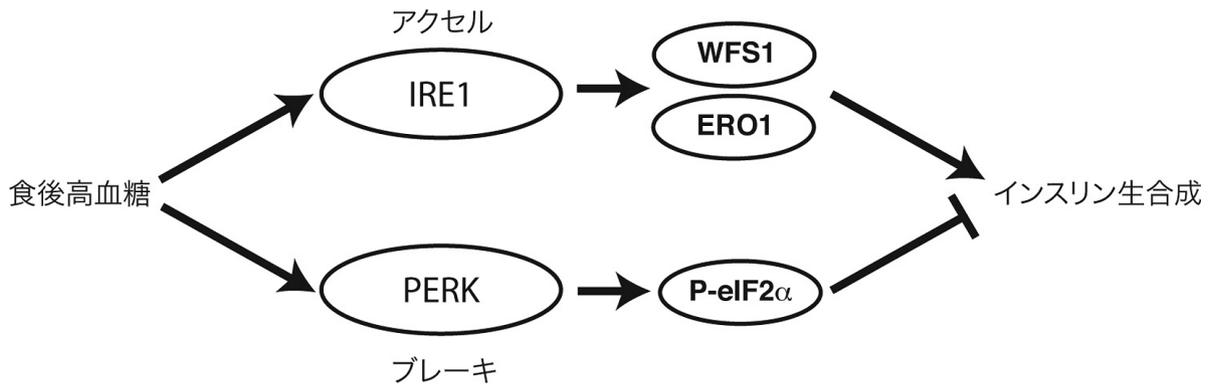


図2 β細胞におけるIRE1とPERKの役割

IRE1はインスリン合成におけるアクセルの役割、PERKはブレーキの役割を果たすことにより、小胞体内でのプロインスリン合成を精密に調節していると考えられる。

る。このように分泌型のタンパク質であるインスリンを多量に合成しなくてはならないβ細胞は、適応反応として異常なタンパク質を感知するための酵素であるIRE1とプロインスリン合成につながりを持たせることで、その機能を保っているのではないかと考えられる。我々の生体内には、β細胞の他にも分泌型タンパク質の合成と分泌に特化した細胞が存在する。そのような細胞においても、IRE1が重要な役割を果たしている可能性があるだろう。

ここまで述べたように、IRE1は、インスリンを合成するβ細胞を異常なタンパク質の蓄積から守ったり、インスリン合成を活性化するのに重要な酵素である。また、IRE1に関連する酵素であるERO1やWFS1もその働きを助けていると考えられる。これらの知見を一步進めて、IRE1の酵素活性を調節できるような薬が開発できれば、糖尿病の治療に使用できるのではないだろうか。一つ注意しなくてはならないのは、IRE1の強い活性化は、小胞体ストレスシグナリングの強い活性化につながり、アポトーシスを引き起こす可能性も考えられることである。我々は、「適度」にIRE1の活性を調節できる薬を見つけることが、非常に重要であると考えている。

## (2) β細胞におけるPERKの役割

小胞体ストレスに対応する適応反応の一つとして、細胞はタンパク質合成を低下させる。この機能によって、細胞は小胞体に送りこむタンパク質の量を減少させて、小胞体への負荷を減らすことができる。この適応反応は、小胞体に存在するI型の膜貫通型タンパク質であるPERKによって制御されている<sup>6)</sup>。PERKのN末端は小胞体内に存在し、この部分は異常タンパク質を感知するドメインとして働いている。膜貫通部分に続くC末端は細胞質に存在し、キ

ナーゼドメインを有している。小胞体ストレスによってPERK分子同士は会合して多量体になり、その結果細胞質側に存在するキナーゼドメインが自己リン酸化を受けて活性化される。その活性化を受けたPERKがeIF2αをリン酸化することにより、タンパク質合成開始複合体の形成が阻害され、タンパク質合成が阻害される。全体的なタンパク質合成の低下を行う一方で、PERKは転写因子であるATF4のタンパク質合成を特異的に上昇させることが明らかになっている(図1)。ATF4の下流には、CHOPやATF3といった、小胞体ストレス応答に重要な遺伝子があると同時に、酸化ストレス耐性に重要な遺伝子があることがわかっている。PERKの発現は、膵ランゲルハンス島において高く、またPERKのノックアウトマウスは、膵β細胞死に伴う糖尿病を発症することが知られている<sup>7,8)</sup>。David Ron博士のグループは、PERKノックアウトマウスの膵ランゲルハンス島を単離し、グルコース刺激にともなうインスリンの合成を調べた。その結果、コントロールの膵ランゲルハンス島に比べて、インスリン合成が亢進していることが見出された。また、PERKノックアウトマウスの膵ランゲルハンス島においては、IRE1の非常に強い活性化が起こっていることが明らかとなった<sup>8)</sup>。このことは、PERKはインスリン合成、特にプロインスリン合成を負に制御していることを示している。つまり、IRE1はインスリン合成におけるアクセルの役割、PERKはブレーキの役割を果たすことにより、小胞体内でのプロインスリン合成を精密に調節していると考えられる(図2)。そして、このバランスがくずれることが、β細胞死につながるのであろう<sup>9)</sup>。また、PERKは成熟したβ細胞の機能維持だけでなく、β細胞の発生、分化にも重要な役割を果たしていることが最

近明らかになった。PERK ノックアウトマウスにおけるβ細胞の増殖は、コントロール群に比べて有為に低く、またβ細胞の分化に重要な役割を果たしている遺伝子群、例えば *MafA* の発現の低下が報告されている。興味深いことに、*PERK* のヒトにおける遺伝子は *EIF2AK3* 遺伝子と呼ばれるが、この遺伝子の変異は Wolcott-Rallison 症候群という小児糖尿病をとまなう疾患を引き起こすことが明らかにされている<sup>10</sup>。これらの結果は、IRE1, PERK という分子が正常なβ細胞の機能維持、分化に重要な役割を果たしており、これらの分子の機能異常はβ細胞機能不全、細胞死、ひいては糖尿病につながることを示している。

### 3. 病理学的な小胞体ストレスによるβ細胞死によって起きる遺伝型糖尿病

#### (1) Wolcott-Rallison 症候群

β細胞における病的な小胞体ストレスが糖尿病に関連している可能性が最初に示唆されたのは、遺伝性の糖尿病を引き起こす常染色体劣性遺伝疾患である Wolcott-Rallison 症候群の原因遺伝子が、*PERK* であることが明らかになった時であろう<sup>10</sup>。PERK のヒトにおける遺伝子名は、*EIF2AK3* である。*EIF2AK3* 遺伝子の、本症候群における変異を注意深く解析すると、変異がすべてキナーゼである PERK/EIF2AK3 の酵素活性に重要な部分にあることが分かる。本症候群における糖尿病は、β細胞死によって引き起こされると考えられているが、多くの小児糖尿病のケースと異なり、自己免疫反応によるβ細胞破壊は原因ではない。PERK ノックアウトマウスが、自己免疫反応を伴わない小胞体ストレスによるβ細胞死によって糖尿病を発症することと併せて考えると、本疾患は小胞体ストレス病と考えることができるだろう。

#### (2) Wolfram 症候群

Wolfram 症候群は、1938年に Wolfram と Wagener によって報告された、小児糖尿病に視神経萎縮を伴う常染色体劣性遺伝疾患である。本症候群の解析が進むにつれ、患者の多くが尿崩症および難聴、小脳失調の他、精神症状も示すことが明らかとなった。本症候群における糖尿病も、自己免疫反応によらないβ細胞死によって引き起こされる。本症候群の原因は長い間不明であったが、1998年にワシントン大学、東北大学、名古屋大学のグループの家系解析により原因遺伝子である *WFS1* 遺伝子が単離されたことで、本疾患の病理学的な解析が進むようになった<sup>11</sup>。我々のグループ及び東北大学、ワシントン大学のグループが、*WFS1* 遺伝子の遺伝子産物である Wolframin (WFS1 タン

パク質) が細胞内の小胞体ストレスを一定以下のレベルに保つのに重要な役割をしていることを明らかにした<sup>12-14</sup>。WFS1 タンパク質および mRNA の発現レベルは、小胞体ストレスの上昇とともに増加し、ストレスを低下させるように細胞に働きかけているようである。Wolfram 症候群においては、WFS1 タンパク質が遺伝子変異によって作られないため、細胞内の小胞体ストレスが異常なレベルにまで上昇してしまい、その結果β細胞死や神経細胞の機能異常を引き起こしている和我々は考えている。

### 最 後 に

適切なレベルの小胞体ストレスシグナリングの活性化はβ細胞の正常な機能維持に重要であり、その一方で、高レベルの小胞体ストレスの持続が遺伝性の糖尿病、Wolfram 症候群などを引き起こすことが明らかになってきた。それでは、自己免疫疾患である 1A 型糖尿病や、最も患者数が多い 2 型糖尿病における小胞体ストレスの役割はどのようなものであろうか。

#### (1) 1 型糖尿病

1 型糖尿病における小胞体ストレスの役割は、解析が始まったばかりであるが、いくつかの興味深い結果が示されている。NO (一酸化窒素) は、インターロイキン 1β や γ インターフェロンによって体内で誘導される分子であり、1 型糖尿病におけるβ細胞死において、重要な役割を果たしていることが知られている。この NO が小胞体ストレスを引き起こし、CHOP や ATF3 などの小胞体ストレス状況下で細胞死を引き起こす分子の発現を上昇させて、β細胞死を引き起こしていることが示された<sup>15</sup>。また、CHOP のノックアウトマウスのランゲルハンス島は、NO によって引き起こされる細胞死に耐性であることから、CHOP をターゲットとした新しいタイプの 1 型糖尿病の治療法が開発できる可能性が示唆されている。

#### (2) 2 型糖尿病

2 型糖尿病においても、β細胞死が認められることがこれまでに報告されているが、このβ細胞死や機能不全において、高いレベルの小胞体ストレスが重要な役割を果たしている可能性がある。2 型糖尿病における最も重要な病理学的な要因は、インスリン抵抗性である。このインスリン抵抗性のために、2 型糖尿病の患者においてはしばしば高インスリン血症が見られる。この高インスリン血症が続くことがβ細胞に高い負荷をかけ、その結果、高レベルの小胞体ストレスが引き起こされる可能性がある。というのも、先に述べたように、インスリン合成には適度なレベ

ルの小胞体ストレスシグナリングの活性化が必要であるからである<sup>5)</sup>。インスリン合成が続くことによるβ細胞の疲弊、機能不全に小胞体ストレスが関与している可能性がある。また、糖尿病や肥満で脂肪細胞からの分泌が増加する遊離脂肪酸が、β細胞内に高レベルの小胞体ストレスを引き起こし、β細胞死を引き起こすという報告もある。

それに加え、インスリン抵抗性そのものが、肝臓や脂肪における高いレベルの小胞体ストレスによって引き起こされる可能性も示されている<sup>16)</sup>。高レベルの小胞体ストレスは、ストレスキナーゼであるJNKを活性化することが知られている。肝臓や脂肪において環境や食事の影響で小胞体ストレスが起きると、JNKを通じてインスリンレセプターからのシグナリングが妨害を受け、インスリン抵抗性を引き起こすというモデルである。このように高レベルの小胞体ストレスが、β細胞だけでなく肝細胞や脂肪細胞の機能不全につながるというのは、非常に興味深い。というのも、これらの細胞に共通するのは、分泌を活発に行っているという点であるからだ。高レベルの小胞体ストレスを下げることでできる薬剤がマウスの糖尿病モデルにおけるインスリン抵抗性を改善することから、小胞体ストレスシグナリングが新しい糖尿病治療薬の開発におけるターゲットとなりうるということが示唆されてきている<sup>17)</sup>。

- 1) Ron, D. & Walter, P. (2007) *Nature Reviews*, 8 (7), 519–529.
- 2) Calton, M., Zeng, H., Urano, F., Till, J.H., Hubbard, S.R., Harding, H.P., Clark, S.G., & Ron, D. (2002) *Nature*, 415 (6867), 92–96.
- 3) Urano, F., Wang, X., Bertolotti, A., Zhang, Y., Chung, P., Harding, H.P., & Ron, D. (2000) *Science*, 287 (5453), 664–666.
- 4) Nishitoh, H., Matsuzawa, A., Tobiume, K., Saegusa, K., Takeda, K., Inoue, K., Hori, S., Kakizuka, A., & Ichijo, H. (2002) *Genes & Development*, 16 (11), 1345–1355.
- 5) Lipson, K.L., Fonseca, S.G., Ishigaki, S., Nguyen, L.X., Foss, E., Bortell, R., Rossini, A.A., & Urano, F. (2006) *Cell Metab.*, 4 (3), 245–254.
- 6) Harding, H.P., Zhang, Y., & Ron, D. (1999) *Nature*, 397 (6716), 271–274.
- 7) Zhang, W., Feng, D., Li, Y., Iida, K., McGrath, B., & Cavener, D.R. (2006) *Cell Metab.*, 4 (6), 491–497.
- 8) Harding, H.P., Zeng, H., Zhang, Y., Jungries, R., Chung, P., Plesken, H., Sabatini, D.D., & Ron, D. (2001) *Molecular Cell*, 7 (6), 1153–1163.
- 9) Lipson, K.L., Fonseca, S.G., & Urano, F. (2006) *Curr. Mol. Med.*, 6 (1), 71–77.
- 10) Delepine, M., Nicolino, M., Barrett, T., Golamaully, M., Lathrop, G.M., & Julier, C. (2000) *Nature Genetics*, 25 (4), 406–409.
- 11) Inoue, H., Tanizawa, Y., Wasson, J., Behn, P., Kalidas, K.,

- Bernal-Mizrachi, E., Mueckler, M., Marshall, H., Donis-Keller, H., Crock, P., Rogers, D., Mikuni, M., Kumashiro, H., Higashi, K., Sobue, G., Oka, Y., & Permutt, M.A. (1998) *Nature Genetics*, 20 (2), 143–148.
- 12) Fonseca, S.G., Fukuma, M., Lipson, K.L., Nguyen, L.X., Allen, J.R., Oka, Y., & Urano, F. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280 (47), 39609–39615.
- 13) Ishihara, H., Takeda, S., Tamura, A., Takahashi, R., Yamaguchi, S., Takei, D., Yamada, T., Inoue, H., Soga, H., Katagiri, H., Tanizawa, Y., & Oka, Y. (2004) *Hum. Mol. Genet.*, 13 (11), 1159–1170.
- 14) Riggs, A.C., Bernal-Mizrachi, E., Ohsugi, M., Wasson, J., Fatrai, S., Welling, C., Murray, J., Schmidt, R.E., Herrera, P.L., & Permutt, M.A. (2005) *Diabetologia*, 48, 2313–2321.
- 15) Oyadomari, S., Takeda, K., Takiguchi, M., Gotoh, T., Matsu-moto, M., Wada, I., Akira, S., Araki, E., & Mori, M. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (19), 10845–10850.
- 16) Ozcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A.H., Iwakoshi, N.N., Ozdelen, E., Tuncman, G., Gorgun, C., Glimcher, L.H., & Hotamisligil, G.S. (2004) *Science*, 306 (5695), 457–461.
- 17) Ozcan, U., Yilmaz, E., Ozcan, L., Furuhashi, M., Vaillancourt, E., Smith, R.O., Gorgun, C.Z., & Hotamisligil, G.S. (2006) *Science*, 313 (5790), 1137–1140.

浦野 文彦

(マサチューセッツ大学医学部分子医学部門)

ER stress signaling in pancreatic beta-cells  
Fumihiko Urano (University of Massachusetts Medical School, Program in Molecular Medicine, 364 Plantation Street, Room 522, Worcester, MA 01605, USA)

## 微生物の糖代謝経路に見られる新規な進化的関係

### はじめに

主な生体触媒である酵素には基本的に高い基質特異性が存在するが、立体構造的によく似た物質に対しても触媒活性を示すことはよく知られている。1976年にJensenによって提唱された酵素進化のリクルート仮説によると<sup>1)</sup>、原始生物は生命活動に必要な最小限の遺伝子(酵素)しか持っていなかったため、酵素の基質特異性は現在よりはるかに広いものだったと考えられる。その後の進化の多様性の過程でこうした遺伝子が重複と変異を起こし、やがて祖先型酵素より厳密な基質特異性を獲得し、それに伴い代謝経路もまた複雑化していった。当然、似た構造の基質に対してはより基質特異性が高まりやすいであろうから、代謝