

文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会他
名古屋教育医療記者会と同時発表

公立大学法人 名古屋市立大学

長年不明であった細胞内ストレス顆粒形成のメカニズムをついに解明

～神経変性疾患の克服や B 型肝炎治療への応用に期待～

英国科学誌『Nucleic Acids Research (ヌクレイック・アシッズ・リサーチ)』電子版に
2024年6月13日午後5時(英国時間)掲載
(日本時間6月14日午前1時)

名古屋市立大学大学院薬学研究科の星野真一教授、山岸良多博士(現大阪公立大学講師)、稲垣佑都助教は、ストレス時に細胞内に形成される液-液相分離であるストレス顆粒(SG)^{※1}が、ストレス時に安定化した mRNA^{※2}の3'末端ポリ A 鎖^{※3}と、ポリ A 鎖結合タンパク質 PABPC1、および脊髄小脳変性症^{※4}の原因因子 Ataxin-2 の協働作業により形成されることを証明しました。本研究成果は、英国科学誌『Nucleic Acids Research (ヌクレイック・アシッズ・リサーチ)』電子版に2024年6月13日(英国時間)、(日本時間6月14日)に掲載されました。

【研究のポイント】

- ・ストレス時に mRNA の3'末端ポリ A 鎖が安定化する。
- ・ mRNA のポリ A 鎖は、ストレス時に生じるストレス顆粒(SG)の形成を促進し、別の細胞内顆粒である P ボディ(PB)^{※5}の形成を抑制する。
- ・ mRNA ポリ A 鎖に特異的に結合する RNA 結合タンパク質 PABPC1 は、SG 形成の土台として働き Ataxin-2 をリクルートする。
- ・ Ataxin-2 は、PABPC1 と共に mRNA の不溶化凝集を促進し、SG 形成を促進する。

【背景】

細胞が各種ストレスに晒されると、細胞内の mRNA3'末端のポリ A 鎖がグローバルに安定化することが知られています。ストレスには、熱ショックや酸化ストレス、紫外線照射、小胞体ストレス、ウイルス感染、栄養飢餓などがあり、ストレスによって多様な細胞応答が観察されますが、共通して mRNA ポリ A 鎖の安定化が観察されます。しかしながら、そのポリ A 鎖安定化の生理的意義についてはこれまで明らかにされていませんでした。一方で、ストレス時には、タンパク質と RNA が液-液相分離によりストレス顆粒を形成することが知られています。ストレス顆粒は、ストレス時に mRNA を障害から保護する役割やストレスキナーゼを阻害して細胞の生存においてはたらくことなど

数多くの保護的な役割が報告されていますが、ストレス顆粒形成のメカニズムについては明らかにされていませんでした。

【研究の成果】

ストレス時に、mRNA のポリ A 鎖がグローバルに安定化する現象は昔から知られており、研究チームはそのメカニズムを解明しすでに報告しています。すなわち、ストレス時にポリ A 鎖の分解因子複合体の制御サブユニットである癌抑制因子 Tob と Pan3 がプロテアソームによって分解されることにより、ポリ A 鎖分解酵素 Caf1-Ccr4 と Pan2 が mRNA にアクセスできなくなり、ポリ A 鎖が安定化するというメカニズムです。そのポリ A 鎖安定化の生理的意義については長らく不明でしたが、今回の研究成果により、ストレス時の mRNA ポリ A 鎖安定化の役割の一つは、ストレス顆粒の形成にあることを突き止めました。図 1 に示す通り、ストレス時に安定化したポリ A 鎖には、ポリ A 鎖結合タンパク質 PABPC1 が結合しますが、その PABPC1 には、Tob と Pan3 がもはや結合できないため、代わりに脊髄小脳変性症の原因因子 Ataxin-2 が結合します。そして、この Ataxin-2 同士が C 末端に存在する天然変性領域を使って凝集することで、PABPC1 と共に mRNA をも不溶化凝集し、ストレス顆粒形成を促進します。このように、本研究では、長年不明であったストレス顆粒形成の分子メカニズムを明らかにしました (図 1)。

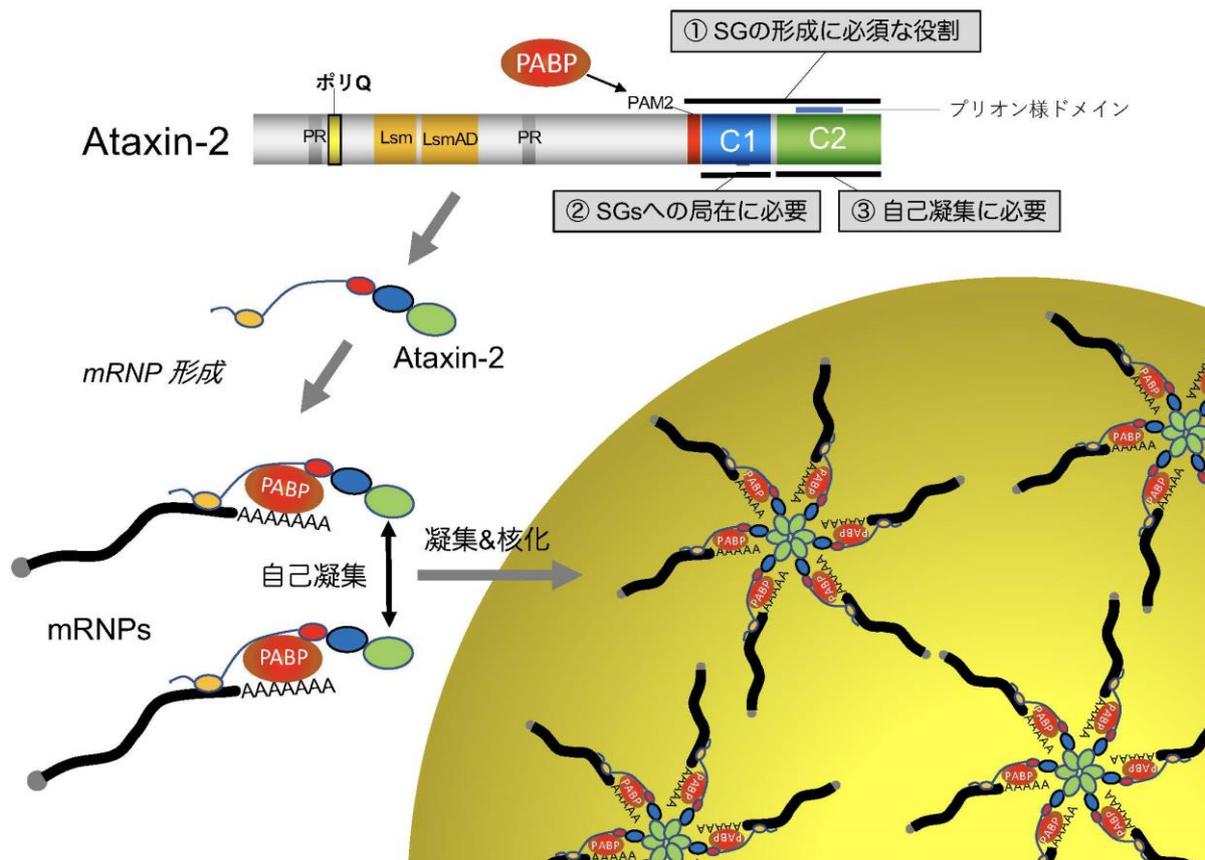


図 1 ストレス顆粒形成のメカニズム

ストレス時安定化した mRNA ポリ A 鎖には、ポリ A 鎖結合タンパク質 PABPC1 が結合するが、この PABPC1 が足場となって脊髄小脳変性症原因因子 Ataxin-2 がリクルートされ、Ataxin-2 が C 末端天然変性領域で自己凝集することにより、ストレス顆粒の形成が促進される。

以上のように、ポリ A 鎖の長い mRNA は、ストレス顆粒の形成を促進しますが、ポリ A 鎖の短い mRNA は、もう一つの細胞内顆粒である P ボディの形成を促進することも明らかにしました。したがって、通常 mRNA は翻訳終結と共役してポリ A 鎖分解が促進され、ポリ A 鎖の短い mRNA が生成して P ボディの形成が促進されますが、ここにストレスが負荷されると、上述のようにこのポリ A 鎖分解が抑制されて、ストレス顆粒の形成が促進されると考えられます (図2)。

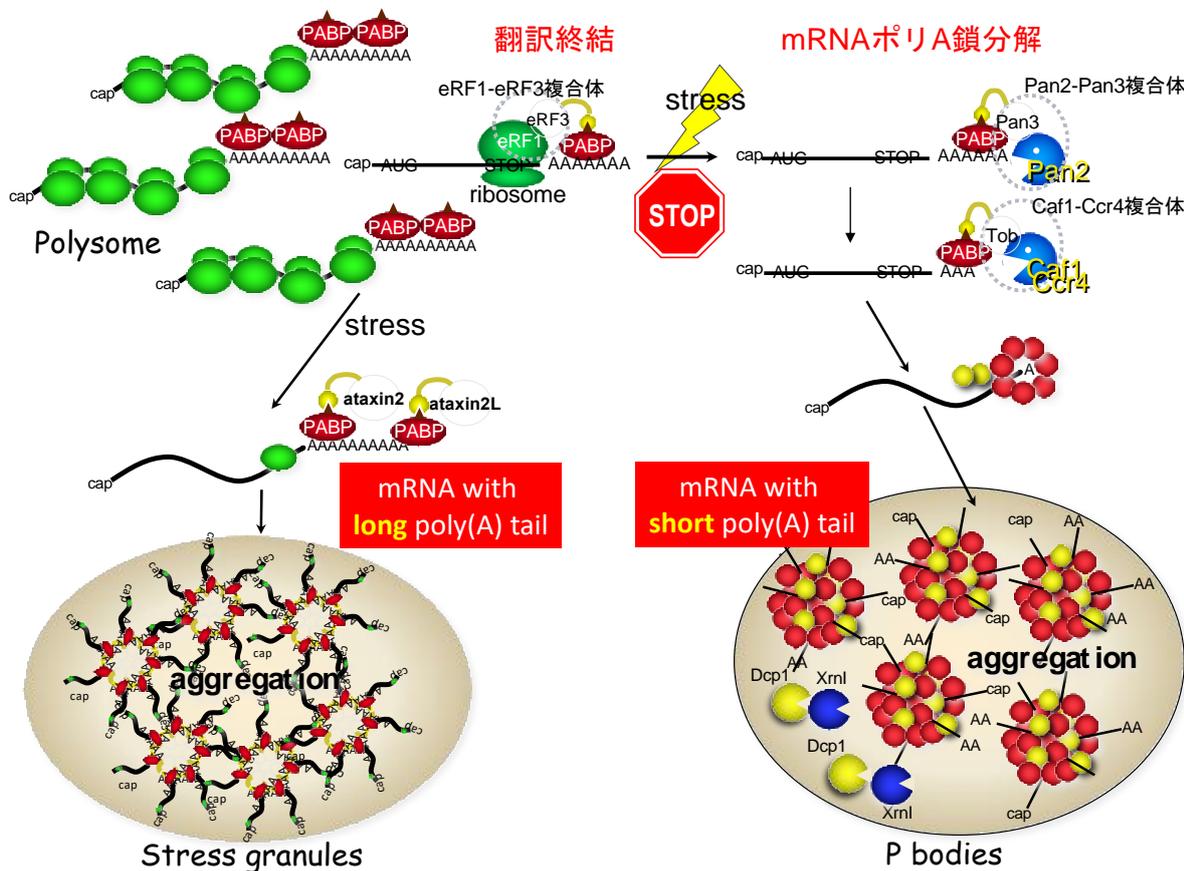


図2 ストレス顆粒と P ボディの形成制御

mRNA は翻訳終結と共役して 3'末端ポリ A 鎖の短縮化がおこるが、このポリ A 鎖が短くなった mRNA は、P ボディの形成を促進する。この時、ストレスが負荷されると、ポリ A 鎖分解にはたらく Pan3 と Tob がプロテアソームによって分解され、Pan2 や Caf1-Ccr4 が mRNA に結合できなくなってポリ A 鎖が安定化する。この安定化したポリ A 鎖には、PABPC1 が結合するが、Pan2 と Tob が分解されてしまうため、PABPC1 には代わりに Ataxin-2 が会合して、凝集をおこしストレス顆粒が形成される。

【研究の意義と今後の展開や社会的意義など】

今回の研究において研究チームは長年不明であったストレス時の mRNA ポリ A 鎖安定化の生理的意義とストレス時に生じるストレス顆粒の形成メカニズムを明らかにしました。

このストレス顆粒の形成には、脊髄小脳変性症の原因因子である Ataxin-2 がはたらき、この Ataxin-2 の自己凝集が顆粒形成に重要であることを証明しました。Ataxin-2 の N 末端にはグルタミン残基が連続するポリ Q 配列が存在し、このポリ Q の異常伸長が脊髄小脳変性症や筋萎縮性側索硬化症の病態形成にはたらくことが報告されています。したがって今後は、Ataxin-2 のポリ Q 変異が今回明らかにしたストレス顆粒形成にどのような影響を与えるのか、またストレス顆粒形成の異常が脊髄小脳

変性症や筋萎縮性側索硬化症^{※6}などの神経変性疾患^{※7}の病態形成にどのような影響を与えるのかが明らかになり、神経変性疾患発症のメカニズム解明が進展することが期待されます。

また、今回の研究成果では、3'末端ポリ A 鎖を付加した人工 mRNA を細胞に導入するとストレス時のストレス顆粒形成を促進し、ポリ A 鎖のない人工 mRNA にはそのような活性がないことを証明しました。ストレス顆粒は mRNA をストレスから保護する活性をもつことから、ポリ A 鎖を有する人工 mRNA は平常時の翻訳において有利であるだけでなく、ストレス時においても細胞内において安定に保持される可能性を新たに提示しました。本研究は、一部日本医療研究開発機構 (AMED) 肝炎等克服実用化研究事業「B 型肝炎創薬実用化等研究事業：B 型肝炎ウイルスの排除を可能とするゲノム編集治療の実用化に向けた包括的な研究」(溝上雅史代表) の支援を受けて実施しました。本事業では、B 型肝炎の根治治療を目的として、肝臓に潜伏する HBV ウイルス DNA を切断するゲノム編集酵素を人工 mRNA の形で導入することを計画しており、その際投与するゲノム編集遺伝子 mRNA 医薬の安定化に本知見を応用します。

【用語解説】

1. ストレス顆粒：細胞がさまざまなストレスを受けることで細胞内に形成される顆粒構造であり、RNA やタンパク質が凝集して細胞質の中に液滴として 2 相に分離する液-液相分離により形成される。ストレス時に RNA やタンパク質をストレスから保護する役割などが想定されている。
2. mRNA：DNA とよく似た核酸とよばれる生体成分で、生体内において遺伝子 DNA がもつ情報が写し取られて作られる。この mRNA をもとにタンパク質が作られることで遺伝子の機能が発揮される。
3. ポリ A 鎖：mRNA の 3'末端に付加されている構造であり、mRNA の安定性と翻訳の 2 つの過程において、転写後の遺伝子発現に大きく寄与している。
4. 脊髄小脳変性症：脊髄や小脳の神経細胞が変性することで生じる運動失調を主な症状とする神経難病。その 2 型の原因遺伝子として Ataxin-2 が同定されている。
5. P ボディ：ストレス顆粒と同様に RNA やタンパク質からなる細胞内の顆粒構造であるが、ストレスのない通常時において細胞内に観察される。
6. 筋萎縮性側索硬化症：体を動かす運動神経が変性することで運動機能に障害をきたす神経難病。
7. 神経変性疾患：上記脊髄小脳変性症や筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、パーキンソン病を代表例として、神経細胞が変性・壊死することで神経系に異常をきたす一群の疾患。

【研究助成】

本研究は、JSPS 科学研究費補助金基盤研究 B、日本医療研究開発機構 (AMED) 肝炎等克服実用化研究事業「B 型肝炎創薬実用化等研究事業：B 型肝炎ウイルスの排除を可能とするゲノム編集治療の実用化に向けた包括的な研究」(溝上雅史代表)、武田科学振興財団の助成を受けたものです。

【論文タイトル】

Concerted action of ataxin-2 and PABPC1-bound mRNA poly(A) tail in the formation of stress granules (ataxin-2 と PABPC1 が結合した mRNA ポリ A 鎖は協調してストレス顆粒を形成する)

【著者】

Ryota Yamagishi^{1,2,†}, Hiroto Inagaki^{1,†}, Jun Suzuki¹, Nao Hosoda¹, Haruka Sugiyama¹, Kazunori Tomita¹, Takashi Hotta¹ and Shin-ichi Hoshino^{1,*}

所属 名古屋市立大学¹、大阪公立大学²

(*Corresponding author ; † Co-first author)

【掲載学術誌】

学術誌名 Nucleic Acids Research (ヌクレイック・アシズ・リサーチ)

DOI 番号 : 10.1093/nar/gkae497

【研究に関する問い合わせ】

名古屋市立大学大学院薬学研究科

教授 星野真一

〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

【報道に関する問い合わせ】

名古屋市立大学 総務部広報室広報係

名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL : 052-853-8328 FAX : 052-853-0551

E-mail : ncu_public@sec.nagoya-cu.ac.jp

連携できる企業様でご関心をお持ちいただける場合は、下記の問い合わせ先までご連絡ください。

【共同研究に関する企業様からの問い合わせ】

名古屋市立大学 産学官共創イノベーションセンター

名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL : 052-853-8041 FAX : 052-841-0261

E-mail : ncu-innovation@sec.nagoya-cu.ac.jp