

特別講演

主催 埼玉医科大学第一生化学教室
平成12年10月30日

・ 後援 埼玉医科大学卒後教育委員会
於 埼玉医科大学第四講堂

ストレス蛋白研究の現状と展望

田島 陽太郎
(秋田大学医学部生化第二講座)

酵母や大腸菌から哺乳動物細胞にいたるまで、死滅させる直前の高温など危険な環境に曝されるとおおかたの蛋白分子の生合成は抑制されるが、逆に生合成が著しく促進される一群の蛋白が存在する。この蛋白分子に対して「熱ショック蛋白HSP」と命名され、1980年代の遺伝子操作技術の進展に伴い、遺伝子の転写促進の機構解析のモデルとして精力的に研究され、核内の熱ショック転写因子HSFが発見された。転写調節機構の研究が一切りになる頃からHSP分子の機能解析が進み、HSPは合成途上の蛋白分子を生理的な立体構造に誘導する機能を持っていることが明らかにされた。この発見によって、蛋白分子の立体構造は一次構造によって自動的に決まるというAnfinsenの法則が否定され、同時に細胞内で非生理的な立体構造になった蛋白分子、すなわち変性した蛋白がHSPによって修復されることが明らかになった。この機能から熱ショック蛋白は分子シャペロンmolecular chaperoneと呼ばれるようになった。

分子シャペロンはその分子量によって、HSP90(分子量90,000)、HSP70(分子量70,000)、HSP60(分子量60,000)などのように命名されている。

1990年代に入ると、HSPの分子シャペロンとしての機能発現の解析が急速に進み、例えばHSP60やHSP70はATPのエネルギーを消費しつつ、変性した蛋白を正しい立体構造に折り畳み直すことが明らかにされた。一方、動物の心臓をごく短時間の虚血などで前処理すると心臓内に特定のHSPが増加し、同時に心臓は虚血に対する抵抗性を獲得することが明らかにされた。

各種HSPを精製して作成した免疫抗体を用いつつ行ったわれわれの研究は臨床系研究者と共に、whole animalを用いた研究、培養細胞を用いた研究、分子レベルでの研究に分かれ進めている。ヒトゲノム解析完了を目前にして熱い視線を注がれているバイオ産業の近未来を考えるために、本日はあえてwhole animalを用い消化器疾患モデルを用いた研究を中心

に解説させて戴きます。

A) セルレインという薬は血圧降下作用を持っているが、脾炎を起こすことで知られている。ラットにセルレイン注射すると脾臓が浮腫状に腫れ重量を増す。ラットに水浸ストレスを負荷するとHSP60が増加し、熱ストレスを負荷するとHSP72が増加するが、脾臓には変化がない。そこで、この2種のストレスを負荷し、ラット脾臓内にそれぞれHSP60とHSP72を增量させてから、セルレインを注射して脾炎の発生を観察した。HSP60を増加させておいた系で脾炎発生が著しく抑制された。HSP72の前誘導ではこの抑制効果は認められなかった。HSP60が実験脾炎の発症を抑制する。

B) ラットの胃の場合は水浸ストレスで著明な粘膜出血を起こす。この一連の研究で、TRHがHSP72を、5-HTがHSP60を増加させることができ明らかになった。そこでHSP60とHSP72の前誘導が0.6N HClによる実験胃潰瘍を防御できるかどうかを観察した。TRHによるHSP72の前誘導が実験潰瘍の発生を著明に防衛すること、5-HTによるHSP60の前誘導は防衛しないことが明らかになった。

広く用いられてきた臨床薬の胃粘膜出血と、亜鉛製剤の胃粘膜保護作用の関係を観察した。

アスピリンの慢性投与

H2ブロッカー：lafutidine, famotidine

PPI: omeprazole, rabeprozole

これらの臨床薬の単独投与で塩酸による潰瘍発生を予防できなかったが、Zn-carnosine前投与で著しい防衛効果を示した。Zn-carnosineは著明なHSP72誘導作用を示す。しかし、Znを除いたカルノシン単独では誘導しない。これと平行してカルノシン単独投与では潰瘍防衛効果を示さない。HSP72は外因性の胃潰瘍の発症を抑制する。

C) 肝臓については、partial hepatectomy, 70%を切除、を実施すると、3日後までに切除前の70%, 10日で切除前まで回復する。HSP72は細胞質に存在す

るが、術後6時間で全肝細胞ですべて核への移行した。24時間経つと、細胞分裂が活発な門脈周辺を除き細胞内に分布するようになる。門脈周辺でのHSP72の核内集積は術後1ヶ月でも散見され、3ヶ月で核内から消失した。HSP72は核内に移行して、肝細胞分裂に役割を果たしているものと推定される。

培養肝細胞の熱や毒性薬剤に対する耐性を観察すると、HSP72のcDNAを挿入した場合耐性が有意に増す。HSP72は肝臓においても、細胞防御に機能していると考えられる。

D) HSP60と免疫抑制剤mizoribine。HSP60はミゾ

リビンをリガンドにしたaffinityクロマトグラフィで精製できた。さらにフローセルにHSP60を結合させ、surface plasmon resonanceによってHSP60とミゾリビンの結合を観察できた。citrate synthaseを用いてシャペロン活性を観察すると、ミゾリビンはHSP60のシャペロン活性を阻害した。ミゾリビンの免疫抑制は、HSP60に結合して出現すると結論できた。

以上の結果は、疾患の予防、治療を目的としてHSPを誘導する、または抑制する薬剤を開発できる可能性を示している。その場合、最終的には人体に副作用を示さない薬剤であることは当然である。