

細胞の酸化ストレス応答に重要な新規因子の解明  
～CACUL1 タンパク質が細胞のストレス耐性を増強する～

研究成果のポイント

1. ガン細胞で発現が見つかる機能未知のタンパク質 CACUL1 タンパク質が、細胞内の酸化ストレス応答因子 Nrf2 の分解を抑制し、酸化ストレス応答を促進させることを明らかにしました。
2. CACUL1 は酸化ストレスによって発現誘導し、細胞のストレス耐性を増強することを明らかにしました。
3. CACUL1 は酸化ストレスが関与する様々な疾患の発症メカニズムに関わる可能性が考えられ、今後の展開が期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 千葉智樹教授の研究グループは、国立研究開発法人産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センターの夏目徹研究センター長らとの共同研究により、CACUL1<sup>1</sup>タンパク質が、ストレス応答経路の中心的な因子であるNrf2<sup>2</sup>を調節し、酸化ストレス応答に重要であることを明らかにしました。

細胞は酸化ストレス<sup>3</sup>が生じると、様々な保護因子を誘導し、ストレスを解消します。この酸化ストレス応答が異常をきたすと、ガンなど様々な疾患の原因になることがわかっているため、その制御メカニズムの解明が重要となっています。酸化ストレス応答に重要な制御因子として、転写因子Nrf2が知られています。Nrf2は、ストレスがない状態ではユビキチン修飾(ユビキチン化)<sup>4</sup>され、その後、分解されるため機能しません。しかし、細胞が酸化ストレスにさらされると、Nrf2のユビキチン化が抑制されて分解されなくなることで、Nrf2が機能するようになります。これまで、ユビキチン化が抑制されるのは、Nrf2にユビキチンを付加するユビキチンリガーゼ(Cul3-Keap1複合体)がダメージを受けるためであると考えられていました。今回の研究は、ユビキチンリガーゼを積極的に抑制する因子が存在することを明らかにしたものです。

本研究で明らかとなった主な点は、CACUL1がCul3-Keap1複合体の活性を積極的に抑制することでNrf2を安定化させること、CACUL1は酸化ストレスに対する細胞のストレス耐性を増強することの二点です。CACUL1は、がん細胞で発現が高まることとその機能が細胞のストレス耐性に重要であることが知られています。したがって今回の成果は、ガンなど酸化ストレスが関わる様々な疾患の病態解明に貢献することが期待されます。

本研究の成果は、2015年8月4日(英国時間)付でネイチャー出版グループの電子ジャーナル Scientific Reports に掲載されました。

\* 本研究は、科学研究費補助金(24・1779)によって実施されました。

## 研究の背景

細胞内で内因性あるいは環境由来のストレスによって活性酸素種が発生すると、細胞は適切な酸化還元状態を維持するよう酸化ストレス応答を誘導します。この酸化ストレス応答の異常は、ガン、糖尿病、神経変性疾患など様々な病気を誘発するため、その制御機構の解明は重要です。酸化ストレス応答の主要な制御因子である転写因子 Nrf2 は、酸化ストレスがない状態では、ユビキチンリガーゼ Cul3-Keap1 複合体によってユビキチン化(ユビキチンを付加)されて分解されます(図1上図)。ユビキチンは細胞内のタンパク質に共有結合する小さなタンパク質であり、ユビキチン化されたタンパク質はプロテアソームという分解酵素によって分解されます。細胞が酸化ストレスを受けると、Cul3-Keap1 複合体による Nrf2 のユビキチン化が抑制されます。それによって安定化した Nrf2 は、様々な酸化ストレス防御因子の遺伝子発現を活性化します(図1下図)。このように Nrf2 の安定性制御は酸化ストレス応答の制御に重要ですが、これまで Nrf2 のユビキチン化が抑制される理由としては、Cul3-Keap1 複合体自身がストレスによって化学修飾を受けるためと考えられてきました。

一方、CACUL1 はガン細胞で発現が高まっている機能未知のタンパク質でした。また、その一次構造は Cul3 のドメイン構造と一部類似していますが、生化学的な活性は不明でした。今回の成果により、CACUL1 が Cul3-Keap1 複合体のはたらきを抑制する活性をもつことが示され、ユビキチンリガーゼ活性を積極的に抑制する機構の存在が明らかとなりました。

## 研究内容と成果

マウスおよび培養細胞に酸化ストレス誘導剤を与えたところ、CACUL1 の発現が上昇し、CACUL1 が酸化ストレスに関与する因子であることがわかりました。そこで、主要な酸化ストレス応答経路である Nrf2 と Cul3-Keap1 複合体について、CACUL1 が及ぼす影響を解析しました。その結果、CACUL1 は Nrf2 および Cul3-Keap1 複合体と結合すること、CACUL1 は Cul3-Keap1 による Nrf2 のユビキチン化を抑制し、Nrf2 を安定化させる効果のあることがわかりました。そこで Nrf2 によって転写活性化される遺伝子(細胞保護因子)を調べたところ、Nrf2 の標的遺伝子の転写活性化が CACUL1 によって促進されていました。ただし、この促進効果はストレス条件下でしか認められなかったことから、標的遺伝子の活性化には Nrf2 の安定化だけでは不十分であることも明らかとなりました。次に、ストレスに対する細胞の生存率について調べると、CACUL1 機能を阻害した細胞は、ストレスに対してアポトーシス(細胞死)を起こしやすく、生存率が低下していました。以上の結果から、CACUL1 は細胞の酸化ストレス耐性を増強する重要な因子であることが判明しました(図2)。また Cul3-Keap1 複合体の活性を積極的に抑制する機構の存在がわかりました。

## 今後の展開

今回の研究で明らかになった CACUL1 は酸化ストレス応答に関与する様々な疾患の病態メカニズム解明に貢献することが期待されます。Nrf2 の分解異常による過剰な活性化は、ガンの原因になることが知られています。そのため、CACUL1 はガン治療の新たなターゲットとなることも期待されます。また、神経変性疾患では酸化ストレス耐性が脆弱となっていることから、CACUL1 による神経細胞の保護効果の解析が期待されます。

参考図

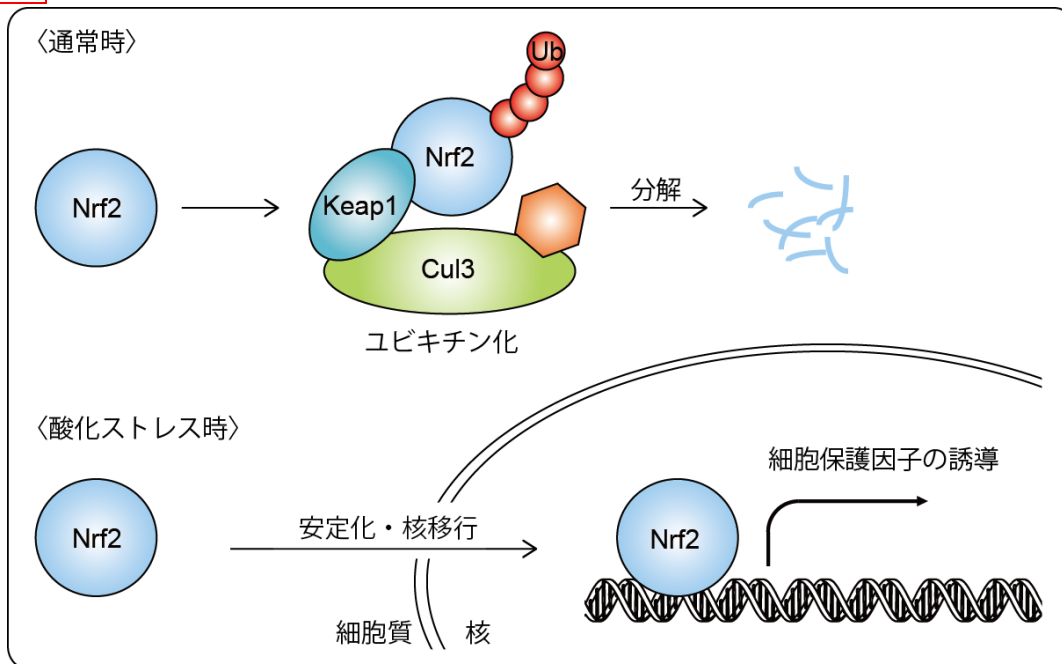


図1 Nrf2 酸化ストレス応答の模式図

通常時、酸化ストレス応答で中心的な働きをもつ転写因子 Nrf2 は、細胞質において Cul3-Keap1 ユビキチンリガーゼによってユビキチン化され、分解されています(上図)。しかし、細胞が酸化ストレス状態になると、Cul3-Keap1 が抑制され、Nrf2 が安定化して核に移行し、様々な細胞保護因子の転写を活性化します(下図)。その結果として、細胞は酸化ストレスを解消することができます。

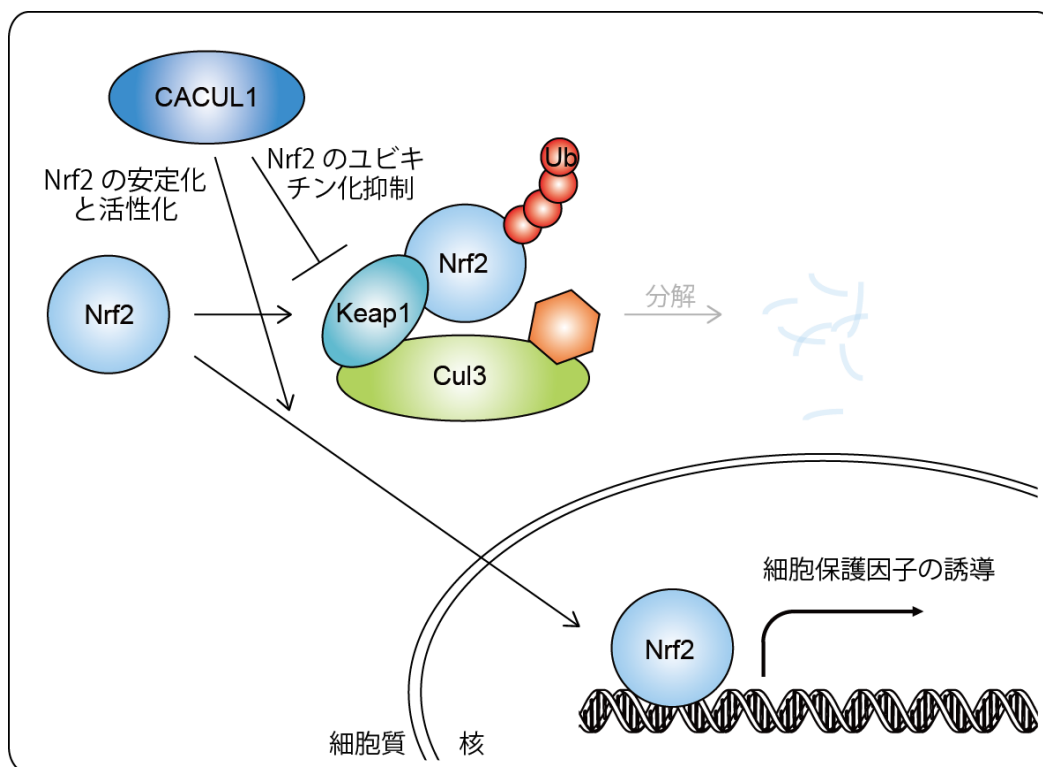


図2 CACUL1によるNrf2の調節

今回の研究により、CACUL1 が Nrf2 のユビキチン化を抑制し安定化させることがわかりました。また、酸化ストレス状態では、CACUL1 は Nrf2 の活性化を促進し、細胞の酸化ストレス耐性に重要であることが明らかとなりました。

## 用語解説

### 注1 CACUL1

細胞周期を制御する CDK2 に相互作用し、Cullin ドメイン構造を持つタンパク質として、CDK2-associated and cullin-domain containing 1 と命名されたが、生化学的な機能は不明であった。がん細胞で発現が高いことが報告されている。

### 注2 Nrf2

酸化ストレス応答を制御する転写因子。赤血球特異的転写因子 Nuclear factor erythroid 2 (NF-E2) に構造的に類似しているため NF-E2 related factor 2 (Nrf2) と命名された。

### 注3 酸化ストレス

タンパク質などの生体分子に酸素が結合（酸化反応）して引き起こされる、生体にとって有害な作用。

### 注4 ユビキチン修飾（ユビキチン化）

タンパク質の翻訳後修飾の一つであり、ユビキチン分子がタンパク質のアミノ基（主にリシン残基の側鎖）にアミド結合する。

## 掲載論文

【題名】 CACUL1/CAC1 Regulates the Antioxidant Response by Stabilizing Nrf2

(CACUL1/CAC1 は Nrf2 を安定化することで細胞のストレス耐性を調整する)

【著者名】 Yu Kigoshi<sup>1</sup>, Tomomi Fukuda<sup>1</sup>, Tomoyuki Endo<sup>1</sup>, Nami Hayasaka<sup>1</sup>, Shun-ichiro Iemura<sup>2</sup>, Toru Natsume<sup>2</sup>, Fuminori Tsuruta<sup>1</sup>, Tomoki Chiba<sup>1</sup>

1 筑波大学大学院生命環境科学研究科

2 産業技術総合研究所創薬分子プロファイリング研究センター

【掲載誌】 *Scientific Reports* **5**, Article number: 12857 (2015)

DOI: 10.1038/srep12857

## 問い合わせ先

氏名 千葉智樹（ちば ともき）

筑波大学 生命環境系 教授

〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1