
 総 説

熱ショック応答システムの役割

中井 彰

山口大学医学部応用医工学・生化学第二講座 宇部市南小串1-1-1 (〒755-8505)

Key words : 遺伝子発見, 恒常性維持

はじめに

自然界において, 温度は生物が生存できるかどうかを決定する重要な要因の一つである. 生物はそれぞれ適当な温度からなる至適環境に生息し, 体温は一定範囲で維持されている. なかには極端な環境に生息する生物も存在する. 例えば超好熱細菌は80度以上の至適温度を持ち, そのなかでも古細菌 *Pyrodictium occultum* は105度の至適温度を持つ¹⁾. 興味深いことに生物はどのような温度で維持されていようとも, そこから数度高い温度にさらされると一群の熱ショック蛋白質が誘導される. この現象を熱ショック応答と呼ぶ. *P. occultum* も108度にさらされると細胞内可溶性蛋白質の約80%が熱ショック蛋白質となる¹⁾. この細菌は生存限界温度が110度であるが, あらかじめ熱ショック蛋白質を誘導しておくことで120度1時間の処理にも耐えることができる. これが温熱耐性の獲得である. 熱ショック応答はおそらく厳しい環境のなかに生命が誕生して最初に備わった生体の防御機構と推測される. 本総説では, この原始的な応答に関わる分子群が, 進化の進んだ高等動物のなかでどのような機能をもつのかに重点を置いて概説してみたい. 熱ショック応答の基本的分子機構は他稿を参照していただきたい^{2,3)}.

温熱耐性

細胞の温熱耐性という現象は2つに分けて考えることができる. 一つは致死的な温熱ストレスに対し

て生存できるかどうかであり, もう一つは何度まで細胞が増殖できるかという現象である.

A. 致死的な温熱ストレスに対する耐性

あらかじめ致死的でない穏和な温熱ストレスを与えられた細胞は, その後に致死的な温度にさらされても死に至らない. この現象は古くから知られており「誘導性の温熱耐性」とも呼ばれる. この耐性の獲得は熱ショック蛋白質群の発現量とよく一致するため, それら蛋白質群の関与が示唆されてきた. 熱ショック応答は熱ショック転写因子(HSF)によって, 主に転写レベルで制御される. 最近になってマウスHSF1欠損繊維芽細胞⁴⁾やニワトリHSF3欠損Bリンパ球細胞⁵⁾では熱ショック応答が欠落しており, そのような細胞では誘導性の温熱耐性の獲得が著しく低下することが明らかとなった. また, HSF欠損ショウジョウバエの解析から, 個体レベルでも誘導性の温熱耐性にHSFとそれが導く熱ショック応答が必須であることが示された⁶⁾. 個体のなかでは細胞の分化が完了し増殖していない細胞が大多数である. したがって増殖している細胞を用いた実験と異なり, この研究では増殖していない細胞においても誘導性の温熱耐性に熱ショック応答が必須であることを示唆している.

致死的な温熱ストレスがどのような分子機構で細胞を死に至らしめ, 熱ショック蛋白質がどう細胞を守るのかは明らかでない. 第一に, 誘導された熱ショック蛋白質が細胞内の様々な代謝過程で働く蛋白質の安定化を増強すること, 第二に, 熱ショック蛋白質がカスパーゼカスケードなどの細胞死のシグナルに抑制的に作用することで温熱耐性を誘導していると推測される.

 平成13年4月2日受理

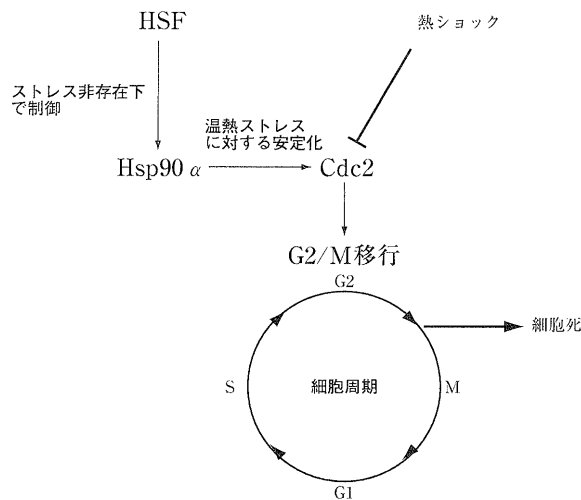


図1 熱ショックによる細胞周期進行阻害の分子機構。普通に増殖している細胞ではHSFがHsp90 α の発現を上げているためCdc2蛋白質が安定化されている。したがって、わずかの温度変化では細胞周期は止まらない。ある程度高い温熱ストレスがかかるとCdc2蛋白質が不安定となり細胞周期のG2ブロックが起こる。HSFの欠損によってわずかの温度変化でもG2ブロックが起こるようになる。

B. 細胞が増殖できる温度の決定機構

ある温熱ストレスが細胞にとって致死的であるかどうかは、おおよそその細胞が増殖できる温度限界以上かそれ以下かで決まる。では、細胞増殖の温度限界を決める分子機構はどうなっているであろうか。熱ショック応答が関わっているであろうか。通常、ニワトリBリンパ球系細胞DT40細胞はニワトリの体温である39.5度で増殖のピークを示し、5度程度高い45度程度まで増殖できる。興味深いことに、熱ショック応答を担う2つの転写因子HSF1とHSF3を欠損した細胞では生理的温度である39.5度よりわずか1℃から2℃の温度上昇でもG1期とG2期で細胞周期を停止させ増殖しなくなる⁷⁾。細胞周期進行を停止させた細胞は速やかに死に至る。解析の結果、HSFは通常の生育条件下においてもHsp90 α の発現を特異的に制御し、Hsp90 α を介してcdc2を温熱ストレスに対して安定化していることが明らかになった。酵母ではHSFは生存に必須であるが、その一部に変異を入れるとやはりHsp90 α の発現が特異的に低下し温熱感受性が増す。したがってHSF/Hsp90 α /cdc2を介した経路は進化の過程で良く保存されており、細胞が増殖できる温度を決定す

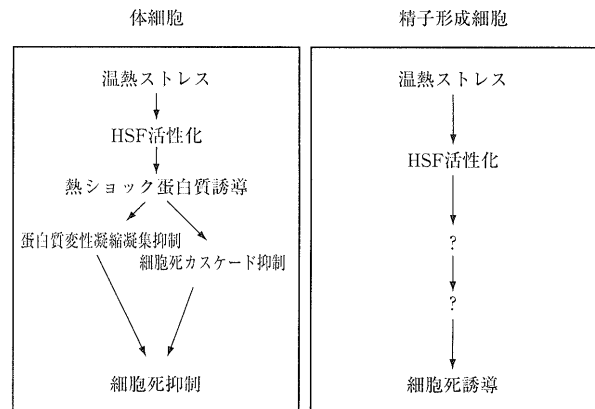


図2 HSF1の活性化と細胞の生死。

体細胞では熱ショックによりHSF1が活性化を受けると熱ショック蛋白質の誘導をひき起こす。その結果、蛋白質の凝集や変性が妨げられ、あるいはカスパーゼカスケードやストレス誘導性キナーゼカスケードの活性化を抑えることで細胞死が妨げられる。一方、精子形成細胞ではHSF1の活性化は熱ショック蛋白質誘導をほとんどひき起こさない。体細胞とは逆に細胞死を導く。

る重要な経路であるといえる (図1)。このように、前処理なしで細胞が持つ温熱に対する耐性を「構造的な温熱耐性」とも呼び、熱ショック蛋白質の誘導はほとんど関与していない。

個体発生

酵母ではHSFが生存に必須であるが、同じく単一のHSFを持つショウジョウバエの細胞はHSFを欠損しても増殖できる。しかし、個体発生において、卵の形成、そして初期の幼虫の発達に必須である⁸⁾。また、マウスにおいてもHSF1の欠損により成体の体重増加の減少と、胎盤形成不良を認める⁴⁾。さらにはHSF1を欠損した卵は正常な遺伝型を持つ精子と交配させてもわずか20%の受精卵が2細胞期まで発達し、胚盤胞にまで発達するものはない⁸⁾。重要なことは、これらのHSFの機能が熱ショック蛋白質の発現を介していないことである。現在のところHSF1がどのようなターゲット遺伝子を介して個体発生に関わるのか、あるいはHSF1が転写因子として働くのかさえも明らかでない。これらの研究が示唆することは、本来熱ショック応答を制御する因子

が、進化の過程で個体発生における何らかの機能を分担するようになったということであろう。高等動物ではHSF1遺伝子ファミリーを形成することから、HSF1以外にも発生に関わるHSFが存在すると推測される。

精子形成

細胞にDNA障害が生じるとp53を介した細胞周期停止と細胞死の誘導が起こることが知られている。これは異常な遺伝情報を次の世代に伝えないという意味で種の保存にとって必須の機構である。一方、蛋白質の障害が次の世代に伝えられるかどうかについては明らかにされていない。興味深いことに、精子形成過程で温熱ストレスにさらされると、交配によって生まれた仔は体重増加の不良が認められる⁹⁾。一般に、蛋白質の障害が感知されるとその情報が伝えられて遺伝子発現が起こる。最も重要なのがHSF1の活性化とそれを介した熱ショック蛋白質群の誘導である。しかしながら精子形成細胞では熱ショック蛋白質の誘導はどのような訳かあまり認められない。それでは精子形成細胞のように遺伝形質が次の世代に伝えられる細胞ではHSF1の活性化はどのような結果をもたらすのであろうか。驚いたことに、遺伝子に変異を導入することで構成的に活性型であるHSF1を発現させると、精子形成細胞はパキテ期で発達を停止しアポトーシスを起こすことが明らかになった¹⁰⁾。

体細胞においては、HSF1の活性化は熱ショック蛋白質を誘導し、それらが蛋白質の変性と凝集を妨げ、さらにカパーゼやストレス活性型のキナーゼなどの活性化を抑制することで細胞死を防ぐ。精子形成細胞においては、体細胞における役割とまったく逆で、HSF1は細胞死を誘導する活性を備えていることが示唆された(図2)。言い換えるとHSF1が種の保存に一役を担っている可能性がある。

ウイルス感染

熱ショック応答は多くの生命現象に一致して引き起こされる。寄生虫やウイルスの感染にともなって宿主側の細胞で熱ショック応答が起こることは良く知られている。ウイルス感染が成功するにはホス

ト細胞の装置を使ってウイルスゲノムが複製されることが必要となる。最近、熱ショック応答がアデノウイルスの複製に必須であることが明らかとなった¹¹⁾。トリのCELOアデノウイルスはGam1と呼ばれる蛋白質をコードしている。Gam1は単独で細胞に発現させるとHsp40をはじめとして一群の熱ショック蛋白質が誘導される。Gam1を欠失したウイルスはA549細胞には感染しないが、あらかじめこの細胞にHsp40を高発現させるとGam1なしでも感染が成功する。これらの結果から、アデノウイルスはその複製を成功させるために、Gam1を使って宿主細胞の熱ショック応答を導いていると推測される。このウイルスと細胞の系は特殊な例であるが、通常のアデノウイルスでも複製そのものに関わるE1A蛋白質などが熱ショック応答の誘導に関わっているのではないかと推測される。誘導された熱ショック蛋白質は複製に関わる蛋白質複合体の活性制御に必要なのであろう。

がん関連遺伝子の機能発現

がん遺伝子あるいはがん抑制遺伝子などが熱ショック応答を導くことがわかってきた。原がん遺伝子c-mycはHSF3のDNA結合ドメインに結合することでその活性化をひき起こし熱ショック応答を導く¹²⁾。またp53やWT1などががん抑制遺伝子の発現も熱ショックエレメントを介して熱ショック応答を導くことが知られている¹³⁾。さらに、インターロイキン6刺激によりSTAT-1転写因子がHSF1と協動的に働く。熱ショック蛋白質がこれらの因子の機能発現に必要なことが推測されるが、熱ショック応答がなければその機能に影響を及ぼすかどうかについては明らかにされていない。

遺伝子変異と表現型

Hsp90が生物の進化に深く関わっているのではないかというLindquistらの報告は大きなインパクトを与えた¹⁴⁾。ショウジョウバエを用いた実験から、Hsp90機能があるレベルに保たれておれば少々の遺伝的変異は表現型にまで至らないことが示された。Hsp90に変異を入れて機能を低下させると、遺伝的変異による表現型は現れやすくなる。また、熱シ

ックなどのストレスを与えても表現型は現れやすい。つまりHsp90は緩衝剤のように遺伝子変異による表現型発現を抑えている。驚くべきことは、いったん表現型が現れるとHsp90の機能を元に戻してもその表現型は世代を越えて現れるのである。したがって生物が進化する過程では遺伝的変異が何の表現型を表すことなく蓄積されて、ある時点でHsp90の容量を超えて表現型が現れる。ストレスがかかったりするとそれが現れやすくなる。その時点で生物にとって有害な変異であれば淘汰されるであろうし、有益なものであれば世代を越えて伝えられるであろうという仮説である。

HSFがストレスを受けていない状態でHsp90 α のみを特異的に制御するという事実⁷⁾は、なぜHsp90なのかという疑問を抱かせる。Hsp90の特徴は多くのキナーゼや転写制御因子といったシグナル伝達に関わる分子を基質としている点である。このことがHsp90の機能低下によってショウジョウバエの発達過程で様々な表現型が現れる理由であろう。前述のように、HSF1の活性は多くのキナーゼカスケードの支配を受けている。したがって細胞により、あるいは細胞の生理的变化に依存してHsp90の量は変化しているであろう。つまり、HSFがHsp90を介して細胞特異的に遺伝的変異の蓄積できる容量を制御しているといえる。

おわりに

ここまで述べてきたように、熱ショック応答、あるいはその制御を司るHSFがかかわる生命現象は多様である。生物進化、種の保存、熱に対する耐性、個体発生など生物が誕生して以来、その存続にとって重要な現象に深く関わっていることが明らかになってきた。マウス個体を対象とした研究から、数年の内にHSFファミリーに関するさらに多くの役割が明らかになると思われる。

文 献

- 1) Stetter KO. Extremophiles and their adaptation to hot environments. *FEBS Letters* 1999 ; **452** : 22-25.
- 2) 田辺真佐子, 中井 彰. 高等動物における熱ショック応答のシグナル伝達機構. 蛋白質核酸酵素 1999 ; **44** : 2434-2441.
- 3) 中井 彰. 熱ショック転写因子. ゲノムからの情報伝達 (半田宏, 石井俊輔, 山本雅之, 藤井義明 編) シュプリンガー・フェアラーク東京, 2000, 118-125.
- 4) Xiao X, Zuo XX, Davis AA, McMillan DR, Curry BB, Richardson JA, Benjamin IJ. HSF1 is required for extra-embryonic development, postnatal growth and protection during inflammatory responses in mice. *EMBO J* 1999 ; **18** : 5943-5952.
- 5) Tanabe M, Kawazoe Y, Takeda S, Morimoto RI, Nagata K, Nakai A. Disruption of the HSF3 gene results in the severe reduction of heat shock gene expression and loss of thermotolerance. *EMBO J* 1998 ; **17** : 1750-1758.
- 6) Jedlicka P, Mortin MA, Wu C. Multiple functions of Drosophila heat shock transcription factor in vivo. *EMBO J* 1997 ; **16** : 2452-2462.
- 7) Nakai A, Ishikawa T. Cell cycle transitions controlled by vertebrate heat shock factors. *EMBO J* (2001) in press.
- 8) Christians E, Davis AA, Benjamin IJ. Maternal effect of Hsf1 on reproductive success. *Nature* 2000 ; **407** : 693-694.
- 9) Jannes P, Spiessens C, Van der Auweral I, D'Hooghe T, Verhoeven G, Vanderschueren D. Male subfertility induced by acute scrotal heating affects embryo quality in normal female mice. *Hum Reprod* 1998 ; **13** : 372-375.
- 10) Nakai A, Suzuki M, Tanabe M. Arrest of spermatogenesis in mice expressing an active heat shock transcription factor 1. *EMBO J* 2000 ; **19** : 1545-1554.
- 11) Glotzer JB, Saltik M, Chiocca S, Michou A-I, Moseley P, Cotton M. Activation of heat-shock response by an adenovirus is essential for virus replication. *Nature* 2000 ; **407** : 207-211.
- 12) Kanei-Ishii C, Tanikawa J, Nakai A, Morimoto RI, Ishii S. Activation of heat shock transcription factor 3 by c-Myb in the absence of cellular stress. *Science* 1997 ; **277** : 246-248.

- 13) Maheswaran S, Englert C, Zheng G, Lee SB, Wong J, Harkin DP, Bean J, Ezzell R, Garvin AJ, McCluskey RT, DeCaprio JA, Haber DA. Inhibition of cellular proliferation by the Wilms tumor suppressor WT1 requires association with the inducible chaperone Hsp70. *Genes Dev* 1998 ; **12** : 1108-1120.
- 14) Rutherford SL, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* 1998 ; **396** : 309-310.

Roles of Heat Shock Transcription Factor System

Akira NAKAI

*Dept of Biochemistry II. and. Bio-Signal Analysis Yamaguchi University School
of Medicine, 1-1-1 Minami-Kogushi, Ube 755-8505, Japan*

SUMMARY

All organisms respond to elevated temperatures by inducing a set of proteins, termed heat shock proteins. This response is called as heat shock response. Heat shock response is mainly regulated at the level of transcription by heat shock transcription factor (HSF). HSF is evolutionary well conserved and diverged functionally during evolution. HSFs not only regulates heat shock response, but is also involved in development, spermatogenesis, and viral infection. Moreover, molecular evolution might be under the control of HSF through Hsp90 expression.