

第6期 第3回創発セミナー
第8回酵母コンソーシアム
「“持続的な弱いストレス” への細胞の環境適応戦略」

大隅基礎科学創成財団
理事 阪井 康能

大隅基礎科学創成財団は2022年11月19日午後4時から、「“持続的な弱いストレス” への細胞の環境適応戦略」というテーマのもと、講演者2名と世話人 中岡、阪井は京都大学医学研究科セミナー室に集合し、オンライン（Zoom）ハイブリッド方式にて創発セミナーを開催しました。

冒頭、理事長 大隅良典からの挨拶の後、本セミナーの世話人である財団理事（京都大学）阪井から酵母コンソーシアムの方向性を念頭におき、「“創発” と “パスツール型研究”」について紹介がありました。その後、2人の講演者による講演の後、約85人の登録参加者との間で、2時間強の活発な討論が行われました。以下にその要旨を報告します。



講演1

弱いストレスへの細胞応答

京都大学大学院生命科学研究所
教授 石川 冬木

石川氏は内科医として白血病患者を診療した経験から、がん細胞が患者というエコシステムの中で生き物のように進化していると感じ、がんがなぜ効率的かつ自律的に悪性化し患者を殺すのかを分子レベルで理解したいと考えたようになった。がんの悪性化は種の進化（ダーウィン進化）と類似の過程、すなわち遺伝的不安定性により生じた独立の突然変異をもつ細胞が選択を受け、その表現型が遺伝する過程を辿るとされている。がんの進化は数十年という短いタイムスパンで起きるものであり、この過程をモデルとして使うことで種の進化の分子機構の一端を解き明かすことができると考えられてきた。この見方は一般的であるが、一方であまりに遺伝学に偏りすぎているという批判もある。例えば、利己的遺伝子に関する著作で有名なDawkinsは、DNA上に起きた突然変異は生殖細胞を介して次世代に伝わる一方、選択圧は生殖細胞から発生してできた組織、個体の表現型に対して掛かるため、遺伝と選択圧は標的となる細胞が異なると主張した。このように、遺伝子型と表現型の一致性に関しては、注意深く議論される必要がある。実際Lindquistにより、HSP90タンパク質の機能低下変異をもつハエが非致命的な弱いストレスに曝露されたときにさまざまな表現型を呈することが報告された。このことは、HSPタンパク質には非致命的なストレス下で異常表現型が顕在化することを抑制する、キャパシターとして作用があることを示す。この発見は、細胞が置かれた環境を考慮することの重要性を示しており、環境によっては遺伝的多型が表現型として顕在化し、遺伝子型から想定されるよりも表現型が多様になると考えられる。がんは上皮細胞に生じ、上皮間葉転換を介して遊走能を獲得し転移するようになる。正常細胞は一定の環境で生育するように制御されている一方、がん細胞は低酸素、低栄養等の微小環境からのストレスを常に受けていることから、がん細胞は遺伝子型から想定されるよりも広い表現型を呈している可能性がある。



石川氏は、日頃経験するような環境変化に細胞がどのように応答するかに興味を持ち、その機構を明らかにしたいと考えた。非致死ストレスは細胞に明瞭な変化をおこさないため、表現型が検出しにくく解析に困難が伴う。石川氏は、非致死的ストレスを受けた細胞がその後の致死ストレスに対する耐性を獲得する現象（獲得耐性）に注目し、獲得耐性に関わる遺伝子を分裂酵母から探索した。その結果、ヒストンH3.3特異的なシャペロンHIRAが獲得耐性に必要であることが明らかになった。HIRAは、H3.1により構成されている転写不活性領域にH3.3を挿入することで、転写を活性化することが知られている。実際、HIRAはストレス耐性遺伝子 $ctt1^+$ のプロモーター配列からヌクレオソームを取り除き、転写を活性化する。このことから、弱いストレスによってHIRAがストレス応答遺伝子を活性化することで、その後の強いストレスに対して即座に転写応答できる状態になっているというモデルが考えられる。ヒトの線維芽細胞においても獲得耐性現象が見出されており、それにはHIRAが必要である。HIRAは非致死的ストレス時に活性化され、低酸素ストレス、タンパク質変性ストレスなどのストレスへ応答する遺伝子領域にリクルートされることが見出されており、この機構が耐性の獲得に関わっている可能性がある。マウスの皮膚がん二段階化学発がんモデルでは、良性腫瘍から悪性腫瘍への変化を追跡することができるが、HIRAをロックアウトした細胞では、良性乳頭種の自然消退が有意に増加し、悪性腫瘍の発生頻度が低下することが示された。このことは、HIRAを介した獲得耐性が、がんの進展に関わっていることを示唆している。

弱い環境変化はその後の強い致死的な環境変化の前兆であると考えられ、弱いストレスがもつ生物に対する良い影響はホルミシスとして知られている。がん細胞は変動する環境の中で致死ストレスに対する抵抗性を獲得しており、これが治療抵抗性と関係しているとする、獲得耐性を抑制することでがんの治療効率が向上することが期待される。

講演 2

「なぜ酵母はエタノールを作り続けられるのか？」

財団フェロー、京都工芸繊維大学応用生物学系
准教授 井沢 真吾

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は真核細胞の優れたモデル生物として、講演者の井沢氏は、モデル真核生物である酵母を利用して、細胞が環境変化にどのように応答しているのか、その分子機構の解明に取り組んでいる。酵母は嫌気的な条件で、発酵によりエタノール生産を行うが、酵母自身のエタノール耐性機構などは不明な点も多い。本セミナーでは酵母がどのようにエタノールストレスに対応しているかについて講演された。

まず酵母が高濃度エタノール存在下では、どのような影響があるか説明された。酵母は10%のエタノール存在下でもほとんど死滅しないが、アクチン細胞骨格の脱極化や細胞の肥大化が起こる。さらに高濃度のエタノールは酵母の新たなタンパク質の合成が抑制され、翻訳されない mRNA は、ストレス顆粒や P(プロセッシング)-ボディーなどの粒子様構造へ隔離される。しかし、変性タンパク質を隔離するために重要な Btn2 などの一部のタンパク質は優先的に合成されていることがわかった。また高エタノール存在下では、細胞内に不溶性タンパク質が増加するために、不溶性タンパク質を除去する品質管理機構が活性化される。一方、エタノールストレス条件では、オートファジーは活性化されておらず、ユビキチン-プロテアソーム系によるタンパク質の分解も阻害されることがわかった。このように酵母は高濃度のエタノールにより生じた変性・凝集タンパク質を集積・除去することで毒性から回避するための分



子機構が備わっていることを説明された。

次にエタノールに対する酵母の適応戦略について話をされた。酵母は一度 6%程度のエタノールにさらした後に 10%エタノールを添加すると、耐性機構を獲得することがわかった。例えば、6%エタノールで酵母を前処理すればプロテアソームによるタンパク質分解も正常に機能している。これは翻訳開始関連因子である Ded1 タンパクが 6%エタノールで処理した場合には、Ded1 の mRNA からの解離が抑制されていることがわかった。以上のように酵母も中程度のエタノールにさらすことで様々な耐性機構を獲得していることを報告された。

最後に醸造過程のように徐々にエタノール濃度が上昇する場合には、中程度のエタノール条件で置いた酵母のように耐性機構を獲得する。特に 15°C のような低温では高濃度のエタノールでも耐性機構を獲得していることを明らかにしている。

講演後には、なぜ酵母は高濃度のエタノールを生産する必要があるのか。また高濃度エタノール存在下でのタンパク質のリン酸化や cAMP の濃度について変化があるのか。さらに高エタノール条件下では酵母細胞膜の脂質組成の変化などは観察されるのか、等についての質問があった。