解 説

ストレスタンパク質の役割

小林 和子*

明治鍼灸大学化学教室

Rolls of Stress Proteins

Kazuko KOBAYASHI

Department of Chemistry, Meiji University of Oriental Medicine

1. はじめに

ストレスには心理的ストレスと生理的ストレスがある。心理的ストレスに対する反応も、生体調節系の機能の基礎的な解明ができれば、分子レベルで説明できるようになるかもしれないが、今はまだ、物質の変化、つまり化学で説明するには、基礎研究の裏付けが不十分である。生理的ストレスには温度、光などの物理的なもの、酸素、pH、化学物質などの化学的なもの、それらの複合的なものがある。これらの心理的、生理的ストレスのいずれの場合も、従来、ストレスを受ける対象は、人や動物などの生物個体全体がとりあげられてきた。ストレスに対する個体の反応は、ホメオスタシスを維持しようとするシステムであり、神経系、内分泌系、免疫系の三つのシステムが関与していることが知られている。鍼灸の効果のメカニズムについても、個体全体の反応としてこれらの三つのシステムから研究が進められている。では、個体を構成している細胞そのものの反応はどのようなであろうか。

近年、基本的なストレスと考えられる高温に対して、個体は細胞レベルで熱ショックタンパク質 (Heat shock protein、Hsp) というタンパク質を合成することが知られてきた¹⁻⁴⁾。これは、動物から、植物、細菌までどの生物にも認められ、種

の違いを越えて非常によく似たタンパク質が合成される。このタンパク質は、熱ショック以外のストレスに対しても同様に合成されることがわかって、これらはストレスタンパク質 (stress protein) と総称されるようになった。これらは、加えられたストレスから生体を防御するために働いていると考えられている。単独の細胞でもストレスに反応するわけで、初期の生命体から備わっていた原始的な防御反応と考えられる。細胞のストレス応答についての研究は、一大分野として急成長している。鍼灸刺激は、単純に考えれば、体の局所の細胞に直接生理的ストレスを与えるものとも考えられるし、以前に鍼灸刺激との関連について報告したこともあり⁵⁻¹²⁾、ストレスタンパク質について述べてみた。既に多くの総説や解説が広範囲にわたって発表されているが、学会員諸氏に少しでも参考になれば幸いである。

2. ストレスタンパク質の合成

細胞を最適生育温度より5-10℃くらい高い温度にすると、平常時のタンパク質合成が減って、かわりに数種類のタンパク質、つまりストレスタンパク質 (hsp) が合成される。このときの温度は、高すぎると細胞がストレス応答をおこす時間もなく死んでしまうので、死なない程度のストレスである。最初にこのようなタンパク質がみつか

キーワード：ストレスタンパク質、多重遺伝子族、ストレス抵抗性、分子シャペロン、鍼灸

Key words: stress protein, multigene families, stress tolerance, molecular chaperone, acupuncture and moxibustion

* 〒629-03 京都府船井郡日吉町保野田ヒノ谷6 明治鍼灸大学化学教室 ☎0771-72-1181

Meiji University of Oriental Medicine, Hiyoshi-cho, Funai-gun, Kyoto 629-03, Japan

ったとき与えられたストレスが熱であったため、熱ショックタンパク質と呼ばれた。熱以外の金属イオンやアルコールのような有機化合物、組織の損傷、虚血などによっても誘導合成される。また、これらは、その後の研究により、細胞内のいろいろな目的のために巧妙に使われていることがわかり、ストレスが与えられた時だけ発現するものだけでなく、平常時にも存在するものがあり、すべてをまとめてストレスタンパク質と呼んでいる。

ストレスタンパク質の研究は熱ショックによってショウジョウバエの唾腺染色体に新たなパフができるという1962年の Ritossa による報告が最初とみなされている¹³⁾。その後、遺伝子発現の過程が研究され^{14,15)}、クローニングなどのバイオテクノロジーの発展に伴ってストレスタンパク質遺伝子の特定や誘導のメカニズムが研究されてきた。研究は、およそ三つに分けられる。一つは、ストレスタンパク質の誘導合成が一過的なので、その時に変化する細胞内の構造や機能、遺伝子の発現のメカニズムを研究する分野である。二つめは、多重遺伝子族（マルチジーンまたはポリジーン）についてである。よく似た塩基配列の遺伝子部位が繰り返し存在しており、アミノ酸配列のよく似たタンパク質がいくつか存在していて、機能は似ているが、ストレスなどの刺激に対して独立に発現する。三つめは、ストレス抵抗性である。

3. ストレス抵抗性とストレスタンパク質

培養CHO（Chinese Hamster Ovary cell）を、いきなり、46℃で14分加熱すると、ほとんど死んでしまうが、あらかじめ、40℃で1時間加熱し、37℃で4時間経過させた後、46℃で14分加熱すると、生存率が非常に高くなる²⁾。熱のかわりに4%エタノールで処理し、37℃で4時間経過後、46℃で14分加熱しても同じように生存率が高くなる^{16), 2)}。つまり、40℃の熱や4%エタノールのような弱いストレスを与えてストレスタンパク質を誘導合成させておくと（37℃、4時間という時間はタンパク質合成のために必要な時間である）、致死的な高温である46℃の強いストレスに対して抵抗性をえることができる。そして、この抵抗性はエタノールに対してえられたものでも熱に対し

て抵抗性があるという交差抵抗である。

4. ストレスタンパク質ファミリー

ストレスタンパク質遺伝子の多重性とその発現するストレスタンパク質は、細胞のタイプによって異なっているが、基本的には機能は同じである。分子量で分けられた一つのグループ、つまりファミリーと呼ばれるグループは哺乳類でも植物でもバクテリアでも同じである（表1）¹⁾。たとえば、分子量7万程度のストレスタンパク質はHsp70ファミリーとよばれ、どの細胞にもある。分子量9万程度のものはHsp90、6万はHsp60、2万はHsp20、1万はHsp10とよぶ。一つのファミリーの各メンバーは細胞内器官によって違っている。

表1 ストレスタンパク質の種類

（ストレス依存的に発現するものをHsp、構成的に発現するものをHsc、Heat shock cognate protein で示す）

Hspファミリー	遺伝子	C	E	Ch	M
哺乳類の細胞					
Hsp90	3	Hsp90	Hsp100	—	—
Hsp70	7-8	Hsp89	Grp94	—	Hsc70
		Hsc72	Grp78		
		Hsc70	Hsp73		
		Hsp70	—		
Hsp60	1	—	—	—	Hsp60
Hsp20	1	Hsp25-27	—	—	—
Hsp10	1	—	—	—	Cpn10
ユビキチン		ユビキチン	—	—	—
植物の細胞					
Hsp90	1	Hsp80	—	—	—
Hsp70	5	Hsc70	Grp78	Hsc70	Hsc70
		Hsp70			
Hsp60	2	—	—	Hsc60	Hsc60
Hsp20	20	Hsps15-19	—	Hsp21	—
Hsp10	1	—	—	Cpn10	—
ユビキチン		ユビキチン	—	—	—
酵母					
Hsp90	2	Hsp90	—	—	—
Hsp70	8	Hsc90	KAR2	—	SSC1
		SSA1-4			
		SSB1,2			
Hsp60	1	—	—	—	Hsp60
Hsp20	1	Hsp26	—	—	—
ユビキチン		ユビキチン	—	—	—
大腸菌					
Hsp70		DnaK			
Hsp60		GroEL,ES			

C：細胞質、E：小胞体、Ch：葉緑体、
M：ミトコンドリア

ストレス依存的に発現するものをHsp、ストレスによらず平常時にも存在しているものをHscと呼ぶことがある。

5. Hsp 遺伝子の発現機構

ストレスタンパク質ができる過程には、DNAを鋳型としてそのタンパク質の mRNA が生成する転写の過程と、mRNA からタンパク質が合成される翻訳過程とが含まれるが、バクテリアでは、ストレスによってストレスタンパク質の mRNA の合成がおこるので、ストレス応答は転写のレベルで制御されている²⁾。真核細胞では、転写と翻訳の両方の段階での制御が考えられている。

6. 細胞の変化

ストレスが細胞に与えられると、細胞内が変化する。たとえば、細胞を熱処理すると Hsc70 およびストレス誘導された Hsp70 が核内に移行し、核小体に移ることが知られている¹⁷⁾。これは、ストレスによって変性した合成途中のリボソームに核小体に移った Hsc70 や Hsp70 が結合して、変性リボソームなどが不溶性の沈澱を形成して細胞に致命的な傷を与えることを防いでいると考えられている。また、ユビキチンというタンパク質はストレスタンパク質でもあるが、どの真核生物にもあるタンパク質で、タンパク質の分解に関係している。ストレスによってユビキチンの合成が促進されるのは、ストレスによって変性した分解しなければならないタンパク質が増えたためではないかと考えられている。

7. 分子シャペロン

平常時にも発現しているストレスタンパク質の生体内での重要な機能に、分子シャペロンとしての働きがある。タンパク質が細胞内で生合成された後、最適な場所に移動してその役割を果たすためには、タンパク質の立体構造の形成やサブユニットのアセンブリー（複合体の形成）が必要であるが、このとき、サブユニット同士あるいは他のタンパク質とまちがった相互作用をしないように働き、自分自身は最終的に完成されたものには組み込まれないタンパク質がある。このようなタン

パク質を分子シャペロンと呼んでいる。（シャペロンというのは、本来は社交界にデビューする若い未婚女性の付き添い人のことで、社交上の行儀作法が守られているかどうか監督する役目をする。）生合成されたばかりのタンパク質や構造変化をおこした変性タンパク質はアグリゲーション（無秩序な凝集体）を形成し、細胞に致命的な損傷を与えるが、分子シャペロンが存在するとタンパク質が安定化され、アグリゲーションが抑制されてタンパク質が正しい場所で役割を発揮できる。

分子シャペロンにはいろいろな働きをするものが存在する。Hsp70ファミリーはタンパク質の折り畳みを助けるだけでなく、折り畳みの進行を防ぎ、膜の通過ができる状態に保つ働きがある。Hsp60のようなシャペロニンファミリーに分類されるものは、タンパク質の折り畳みやアセンブリーを助ける。Hsp90ファミリーは少し異なっていて、ホルモン受容体と結合することで、その構造の維持や活性を調節している。

8. 個体レベルでの Hsp の働き

9.5日目のラット胎児に42℃、10分間の熱ショックを与えてタンパク質合成をさせると、1.5時間後には平常時のタンパク質合成量は減少して、Hspが増加し、その後Hspが徐々に減少して6時間後にはほぼ元に戻ったと報告されている¹⁸⁾。9.5日目のラット胎児に熱ショックを与えて2日後に調べた場合、42℃、10分間の穏やかな熱ショックを与えたものでは、発育は正常であるが、いきなり43.5℃、7.5分の強い熱ショックを与えたものでは、眼と前脳に欠陥が認められている。しかし、42℃、10分間の弱い熱ショックを与えて、熱ショック応答を誘導させた後、43.5℃、7.5分の強い熱ショックを与えたものでは、胎児が少し小さいが、形態的には欠けた部分は認められないと報告されている¹⁹⁾。弱い熱ショックをあらかじめ与えてHspを合成させておくと、致命的な熱ショックに対して抵抗性を獲得できることを示している。

9. 鍼灸刺激との関連

個体レベルでのストレスは、内部環境の変化をおこす生理的、心理的要因と考えられるが、これらの影響には個体差があり、個別的である。細胞レベルのストレスとの共通点は、ストレスに対する抵抗性があることで、それも交差抵抗を示すことである。鍼灸刺激は熱的刺激、機械的刺激、電氣的刺激であるが、弱い刺激をあらかじめ与えて抵抗性をもたせる治療法と考えれば、ストレスタンパク質との関連が考えられ、灸や針通電刺激との関連性について、実験結果を報告した⁵⁾⁻¹²⁾。針通電刺激と灸刺激をラットに与えて、その部分のタンパク質を抽出して、電気泳動法によって調べると、どちらの場合もストレスタンパク質が合成されることが認められた。また、生成されたストレスタンパク質の種類や生成量の割合など似た傾向を示した(表2)。刺激を受けた局所部分の細胞内にストレスタンパク質が生成したわけで、ストレスタンパク質が平常時にも細胞の構成要素として欠くことのできない役割を担っていることが明らかにされつつある現在、ストレスタンパク質が鍼灸メカニズムの解明方法のひとつの指標になるかもしれない。

表2 鍼灸刺激を与えた場合のストレスタンパク質の生成
Ratio of Stress Proteins (Heat-Shock Proteins)
to Control Proteins (%)

	p70	p85	P100
Electro-Acupuncture	4.5	17.4	1.0
Moxibustion	6.8	20.8	1.2

10. おわりに

ストレスタンパク質は、炎症、感染症、老化など病気との関連についても指摘されているが、基礎的な研究による機構はまだ明らかでない。また、ストレスタンパク質のアミノ酸配列が大腸菌から高等脊椎動物、植物にいたるすべての生物において非常によく似ており、生物進化における役割も

考えられるが、まだよくわかっていない。いずれにしても非常に広い分野でストレスタンパク質の関連が考えられるので、分子レベルの基礎研究に注目しながら、鍼灸との関わりを探していきたい。

文 献

- 1) Hightower L, and Nover L, (Eds): Heat Shock and Development, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1991.
- 2) 矢原一郎: ストレス応答とストレスタンパク質. 生化学, 64: 1244-1261, 1992.
- 3) 河田康志, 永井純: 分子シャペロンタンパク質. 化学, 48: 194-198, 1998.
- 4) 十亀弘子, 小久保利雄: 分子シャペロンはどのようにタンパク質の折りたたみ中間体を認識するか. 化学と工業, 47: 686-687, 1994.
- 5) Kobayashi K: Induction of Heat-Shock Protein by Moxibustion. Amer J Chin Med, XXIII, 3-4: 327-330, 1995.
- 6) 小林和子, 高岡裕, 竹石和秀: 灸と熱ショック蛋白質との関連. 医学のあゆみ, 148: 199-200, 1989.
- 7) 小林和子: 灸の効果と熱ショックタンパク質との関連性. 上原記念生命科学財団研究報告集, 3: 1-3, 1989.
- 8) 小林和子: 鍼灸刺激とストレスタンパク質との関連. 全日本鍼灸学会雑誌, 39: 338-341, 1989.
- 9) 小林和子: 灸における熱ショックタンパク質(hsp)の意義. 明治鍼灸医学, 4: 67-71, 1988.
- 10) 小林和子: 針通電刺激とストレスタンパク質との関連. 明治鍼灸医学, 5: 63-66, 1989.
- 11) 小林和子, 島津高洋, 大田美香, 飯星將盛: 針刺激によって誘導されたストレスタンパク質の分析. 全日本鍼灸学会雑誌, 40: 365-368, 1990.
- 12) 小林和子, 針灸刺激によって誘導されるストレスタンパク質の二次元電気泳動パターン画像解析による定量. 全日本鍼灸学会雑誌, 42: 165-168, 1992.

- 13) Ritossa F : A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*, 18 : 571-573, 1962.
- 14) Tissieres A, Mitchell HK and Tracy UM : Protein synthesis in salivary glands of *D. melanogaster*. Relation to chromosome puffs. *J Mol Biol*, 84 : 349-398, 1974.
- 15) McKenzie SL and Meselson M : Translation in vitro of *Drosophila* heat-shock messages. *J Mol Biol*, 117 : 279-283, 1977.
- 16) Li GC and Hahn GM : Ethanol-induced tolerance to heat and to adriamycin. *Nature*, 274 : 699-701, 1978.
- 17) Lewis MJ and Pelham RB : Involvement of ATP in the nuclear and nucleolar functions of the 70 kD heat shock protein. *EMBO J*, 4 : 3137-3143, 1985.
- 18) Walsh DA, Hightower LE, Klein NW et al : The induction of the heat shock proteins during early mammalian development. *Heat shock, Cold Spring Harbor Lab Symp*, 2 : 92, 1985.
- 19) Walsh DA, Klein NW, Hightower LE et al : Heat shock and thermotolerance during early rat embryo development. *Teratology*, 36 : 181-191, 1987.