

## I ゴルジ体ストレス応答の解析

### The Analysis of the Golgi Stress Response

吉田秀郎・若林貞夫・谷口麻衣

Yoshida, H., Wakabayashi, S., Taniguchi, M.

ゴルジ体は分泌タンパク質や膜タンパク質の糖鎖修飾や選別輸送を行う細胞小器官であるが、細胞内のゴルジ体の存在量はゴルジ体ストレス応答と呼ばれる機構によって厳密に制御されている。われわれは、N型糖鎖修飾や選別輸送に関与する因子の発現を制御するゴルジ体ストレス応答の一経路である TFE3 経路をこれまでに同定した。転写因子 TFE3 は TFE3 経路を制御する主要な転写因子であり、平常時にはリン酸化されることによって細胞質に繫留されて不活性な状態に保たれているが、ゴルジ体ストレス時には脱リン酸化されて核へ移行し、転写制御配列 GASE に結合して N 型糖鎖修飾の修飾酵素や選別輸送因子遺伝子の転写を誘導する。一方、もう一つの転写因子 MLX はゴルジ体ストレス時に核へ移行して GASE に競合的に結合し、TFE3 の GASE 結合を阻害することによってゴルジ体ストレス応答を負に制御していることを見出した。

また、ゴルジ体で起こる他のタイプの糖鎖修飾に関与する因子の発現を制御するゴルジ体ストレス応答の新規経路についても解析を進めている。具体的には、コンドロイチン硫酸やヘパラン硫酸のようなプロテオグリカンの糖鎖修飾を制御するプロテオグリカン経路、消化管などの粘膜に存在するムチン型糖鎖修飾を制御する mucin 経路、更に脳に多量に存在するガングリオシドなど糖脂質の糖鎖修飾を制御するグリコスフィンゴリピッド経路について、転写制御因子や転写制御配列を同定しようと試みている。予備的な実験から、GGGGCGGGG 様配列がプロテオグリカン経路を制御していることを既に見出している。

また、このようなゴルジ体ストレス応答の各応答経路がアストロサイトなどプロテオグリカンを大量に発現するグリア細胞の分化や、粘膜を多量に産生するゴブレット細胞の分化にどのように貢献しているか検討することによって、ゴルジ体ストレス応答の生理学的機能を明らかにしようとしている。予備的な実験から、アストロサイトに分化する際にプロテオグリカンが大量に産生されるとともに、プロテオグリカン経路が活性化されていることを示唆するデータを得ている。

## II 小胞体ストレス応答を調節する

### 制御因子の機能と構造の解析

## Functional and Structural Analysis of Regulatory Factors Controlling the Endoplasmic Reticulum Stress Response

吉田秀郎・若林貞夫  
Yoshida, H., Wakabayashi, S.

小胞体は分泌タンパク質や膜タンパク質の合成とフォールディングを司る細胞小器官であるが、細胞内の小胞体の存在量は小胞体ストレス応答と呼ばれる機構によって厳密に制御されている。これまでに、小胞体ストレス応答依存的な転写誘導を制御するエンハンサー配列 ERSE や転写因子 pATF6(N)やセンサー分子 pATF6(P)、活性型転写因子 pXBP1(S)と制御因子 pXBP1(U)、調節因子 UBC9 を同定した。これらの制御因子の機能解析と立体構造解析を並行して行うことによって、小胞体ストレス応答の分子機構をピコバイオロジーのレベルで解明する。現在は、pXBP1(U)と pATF6(P)の立体構造解析を中心に研究を進めている。

### III 血液凝固線溶制御調節タンパク質の 構造と機能の解析

#### Analysis of Structure-Function Relationship of Regulatory Proteins of Blood Coagulation and Fibrinolysis

若林貞夫  
Wakabayashi, S.

血液凝固線溶の制御調節因子の生理機能の解明を目指して研究を行っている。特に、血中の主要タンパク質の 1 つであるヒスチジンリッチ糖タンパク質 (HRG) の凝固および線溶反応における制御調節因子としての生理機能の解明を目指し、HRG とフィブリノゲンおよびフィブリンとの相互作用部位の解析、および相互作用による凝固反応制御の機構の解析を進めている。また、HRG による T 細胞分化促進に関わる T 細胞表層の HRG 受容体の同定、機構解析も進めている。

#### 発表論文 List of Publications

- I-1 Mai Taniguchi\*, Kanae Sasaki-Osugi\*, Masaya Oku, Shogo Sawaguchi, Soichiro Tanakura, Yumeto Kawai, Sadao Wakabayashi, and Hiderou Yoshida. MLX is a transcriptional repressor of the mammalian Golgi stress response. Cell Struct. Funct. 41, 93-104, 2016. (\*: these authors are equally contributed to the paper)

- I-2 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答」 生化学 89, 154-163, 2016.
- I-3 吉田秀郎 ゴルジ体ストレス応答による糖鎖修飾局域の制御 (第 67 回日本細胞生物学会大会、京都テルサ、京都府)
- I-4 吉田秀郎 「小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答」 (清瀬土屋・長記念勉強会、東京都立小児総合医療センター、東京都)
- I-5 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答 –ゴルジ体から核へのシグナル伝達」 (第 67 回日本電気泳動学会総会、釧路市観光国際交流センター、北海道)
- I-6 Hiderou Yoshida. Golgi stress response and homeostasis of Golgi apparatus. (第 89 回日本生化学会大会、東北大学川内北キャンパス、宮城県)
- I-7 若林貞夫、河村優忠、池崎美穂、太田祐馬、岸本夕季、塚本智仁、佐々木桂奈江、谷口麻衣、吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答を制御する転写因子 TFE3 はムチン経路の活性化によって転写が促進される」 (第 89 回日本生化学会大会、東北大学川内北キャンパス、宮城県)
- I-8 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答による糖鎖修飾局域のダイナミックな制御」 (第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、神奈川県)
- I-9 ○ 谷口麻衣、奥田知穂、田中隆也、中川幸大、濱田響、小森亮太、佐々木桂奈江、若林貞夫、吉田秀郎 「プロテオグリカン型糖鎖修飾酵素遺伝子の転写を調節する新規ゴルジ体ストレス応答経路の解析」 (第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、神奈川県)
- I-10 小森亮太、向井美穂、若林貞夫、谷口麻衣、吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路による糖鎖修飾酵素遺伝子 HS6ST1 の転写誘導機構」 (第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、神奈川県)
- I-11 桐村 朋奈、谷口 麻衣、若林 貞夫、吉田 秀郎 「ゴルジ体ストレス応答スフィンゴ糖脂質経路によるスフィンゴ脂質糖鎖修飾酵素の発現制御」 (第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、神奈川県)
- I-12 荒川佳穂、谷口麻衣、若林貞夫、吉田秀郎 「グリア細胞分化過程におけるゴルジ体ストレス応答の役割」 (第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、神奈川県)
- II-1 Daisuke Ariyasu 1, Hiderou Yoshida\* and Yukihiro Hasegawa \*. ER Stress and Endocrine Disorders. Int. J. Mol. Sci. 18, E382, 2017. (\*: co-corresponding authors)
- II-2 Hiderou Yoshida. From UPR to organelle autoregulation. (Nobel Forum, Karolinska Institute, Sweden)
- II-3 吉田秀郎 「ノーベル賞と小胞体ストレス応答と森和俊博士と」 実験医学 34, 3070-3073, 2016.

## 大学院生命理学研究科

### 博士前期課程

小森 亮太：プロテオグリカン経路の標的遺伝子 HS6ST1 のプロモーター解析

桐村 朋奈：スフィンゴ脂質の糖鎖修飾を制御するゴルジ体ストレス応答経路の同定

荒川 佳穂：グリア細胞分化におけるゴルジ体ストレス応答  
プロテオグリカン経路の活性化

奥田 知穂：プロテオグリカン経路の標的遺伝子 GLCE のプロモーター解析

河村 優忠：ムチン経路の標的遺伝子 SIAT9B と GCNT4、TFE3 のプロモーター解析

Ikhwan Jamaludin：Transcriptional regulation of the human GALNT5 and 18 genes  
by the mucin pathway of the Golgi stress response.

## 科学研究費補助金等

- 1 科学研究費補助金（基盤研究C）課題番号 16K07356（平成28年度）  
研究課題 プロテオグリカンの糖鎖修飾を制御するゴルジ体ストレス応答経路の解析  
研究代表者 吉田秀郎
- 2 科学研究費補助金（特別研究員奨励費）課題番号15J05492（平成28年度）  
研究課題 初期分泌経路オルガネラにおけるカルシウム恒常性破綻に対する  
ストレス応答制御  
研究代表者 佐々木桂奈江
- 3 特別研究助成金（先導的プロジェクト研究）（平成28年度）  
研究課題 ゴルジ体ストレス応答の人工的操作による、脊椎損傷の治療法開発  
研究代表者 吉田秀郎
- 4 特別研究助成金（若手研究者支援）（平成28年度）  
研究課題 プロテオグリカンの糖鎖修飾酵素の転写を制御する  
ゴルジ体ストレス応答経路の解析  
研究代表者 谷口麻衣