

ゴルジ体ストレス応答によるアポトーシス・タンパク質分解・小胞輸送の制御
Regulation of apoptosis, protein degradation and vesicular transport by Golgi stress response

(日本分子生物学会推薦)

代表研究者 京都大学 吉田秀郎 Kyoto University Hiderou YOSHIDA

When increased production of secretory proteins overwhelms the capacity of the endoplasmic reticulum (ER) and the Golgi apparatus, eukaryotic cells expand their capacity to sustain secretory function. The capacity of the ER is enhanced by the mechanism called the ER stress response, but the mechanism regulating Golgi capacity (the Golgi stress response) has remained unclear. Here, we found that transcription of Golgi-related genes, including Golgi-specific glycosylation enzymes, as well as genes involved in apoptosis, protein degradation and vesicular transport was enhanced when Golgi capacity became insufficient. This transcriptional induction was found to be commonly regulated by a novel cis-acting element called the Golgi apparatus stress response element (GASE). We isolated a bHLH-ZIP protein, MLX, as a GASE-binding protein, and found that overexpression of MLX suppressed transcriptional induction mediated through GASE, whereas another bHLH-ZIP protein, TFE3, was essential for GASE-mediated transcriptional induction. These findings suggest that the mammalian Golgi stress response is controlled by a network of bHLH-ZIP transcription factors. Our findings not only lead to the novel view that the capacity of each organelle is autoregulated according to cellular demands, which is a fundamental point of cell biology, but also contribute to medical research on Golgi-related diseases.

研究目的

細胞の中にはゴルジ体や小胞体などの様々な細胞小器官が存在し、細胞の機能を分担している。興味深いことに、それぞれの細胞小器官の機能や存在量は細胞の需要に応じて厳密に制御されている。研究代表者はこれまでに小胞体の量的調節機構である小胞体ストレス応答の分子機構を明らかにし、現在はゴルジ体の量的調節機構であるゴルジ体ストレス応答の研究に着手している (Fig. 1)。

これまでの解析から、ゴルジ体の構造維持を担うタンパク質やゴルジ体での糖鎖修飾酵素の発現がゴルジ体ストレス応答によって誘導されることを明らかにしているが、これら以外にも誘導される遺伝子があるのではないかと考えた。例えば、ゴルジ体は様々な分泌タンパク質を細胞の特定の部位に分別輸送する配送センターのような場所であり、小胞輸送はゴルジ体の重要な機能であると考えられる。また、ゴルジ体での加工がうまくいかなかった不良品の分泌タンパク質を分解処理する機構も存在すると考えられる。更に、細胞がゴルジ体ストレスに耐えきれなくなったときには細胞を丸ごと処理するアポトーシス経路も存在することが想像される。そこで本研究課題では、ゴル

ゴルジ体ストレス応答によるアポトーシス、ゴルジ体タンパク質分解装置、ゴルジ体からの小胞輸送の制御について解析することにした。

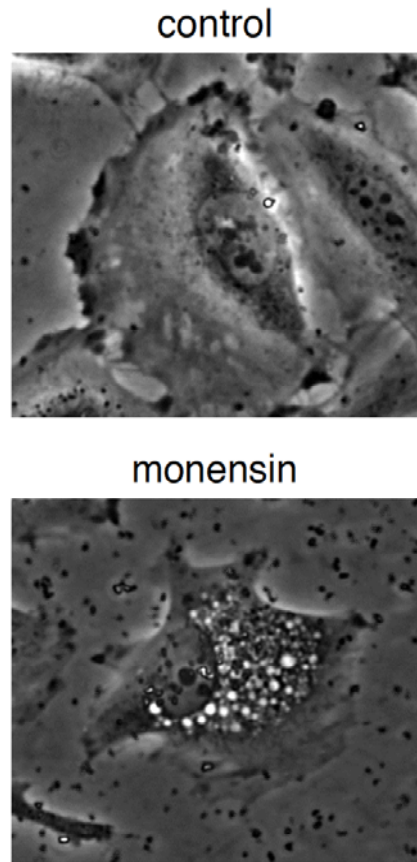


Fig. 1 Expansion of the Golgi apparatus by monensin, a Golgi-stress inducing agent

研究経過

ゴルジ体ストレス応答によって転写誘導される遺伝子を DNA microarray を用いて網羅的に検索したところ、アポトーシス因子である BNIP3 や BNIP3L, BIK, Harakiri, TRIB3, caspase-12 を同定した。これらの遺伝子の発現を Northern blot 法によって調べたところ、確かにゴルジ体ストレス時に転写が誘導されることを確認した。また、ゴルジ体ストレスを長時間賦課すると、細胞がアポトーシスを起こすことを見いだした。また、DNA microarray 解析の結果、タンパク質分解（あるいは小胞輸送）に関わると推定される FBXO32 や FBXO27, FBXL16, RNF24, RNF145, RNF191 などのユビキチンリガーゼの発現が誘導されることもわかった。更に、syntaxin 3A や WIP149, SNX9, SNX16, RAB20, RAB45 など小胞輸送因子の発現も誘導されることがわかった。

FBXO32 遺伝子などの転写誘導を制御する転写制御配列を解析したところ、ACGTGGC という配列がゴルジ体ストレス依存的な転写誘導を制御していることがわかった。そこでこの転写制御配列を GASE (Golgi apparatus stress response element) と命名した。GASE に結合して転写を制御する転写

制御因子を検索したところ、bHLH-ZIP 型転写因子である TFE3 と MLX を同定した。細胞中でこれらの転写因子を過剰発現すると、TFE3 の場合は GASE からの転写が促進され、MLX の場合は抑制された。これらのことから、TFE3 は転写活性化因子、MLX は転写抑制因子であると考えている (Fig. 2)。ゴルジ体ストレスを受けると TFE3 は 60kDa の分子から 74kDa へ変換され、一方 MLX は細胞質から核へ移行することがわかった。現在、このような TFE3 と MLX の活性・発現制御機構を詳細に解析している。

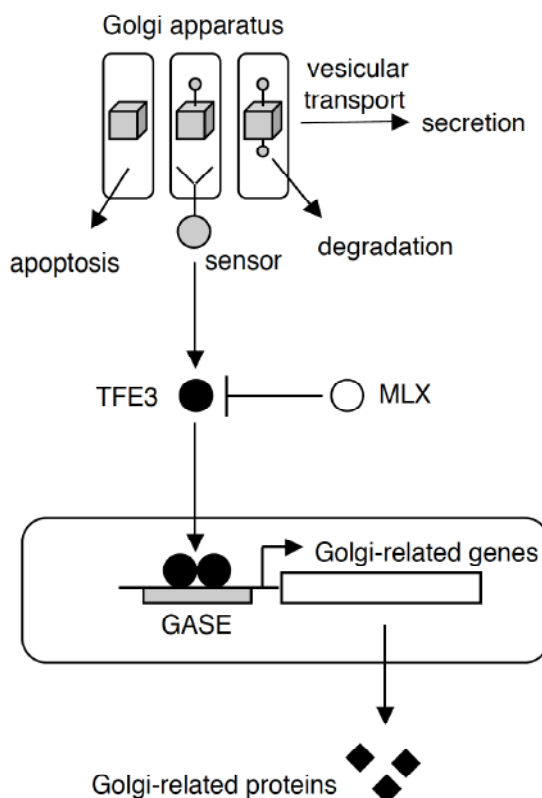


Fig. 2 Working hypothesis of mammalian Golgi stress response

考察

ゴルジ体ストレス応答の研究は研究代表者が開拓した全く新規の研究分野であり、研究代表者以外にゴルジ体ストレス応答の研究をしている研究者はいない。また研究代表者も、ゴルジ体ストレス応答によってゴルジ体の構造や糖鎖修飾に関わる遺伝子の発現が誘導されること以外何も明らかにしていなかった。本研究課題によってゴルジ体ストレス応答がアポトーシス誘導、タンパク質分解及び小胞輸送経路の強化を行っていることがわかり、ゴルジ体ストレス応答が予想していた以上に広い応答機構であることを明らかにすることができた。またゴルジ体ストレス応答の分子機構に関しても、転写制御配列や転写制御因子を同定することができ、ゴルジ体ストレス応答の基本機構を明らかにしつつある。今後は、同定した転写制御因子の発現・活性調節機構を解析するとともに、ゴルジ体ストレスを感知するセンサー分子を同定し、センサー分子から転写因子に至る細胞内情報

伝達経路を解明する。また、センサー分子がどのようにしてゴルジ体ストレスを感知しているのか、更にゴルジ体ストレスの分子の実体とは何であるのかを明らかにし、ゴルジ体ストレス応答機構の全貌を解明しようと考えている。その成果は、すべての細胞小器官の量的調節機構を明らかにするという研究代表者のライフワークの重要な礎となる。細胞小器官の量的調節機構は、これまでほとんど生物学者から意識されることがなかったが、この問題は細胞生物学の根本的な命題である。この量的調節機構が存在するおかげで、細胞が分裂して2倍になる時にはそれぞれの細胞小器官の量も2倍になり、必要な時には必要な細胞小器官だけを必要なだけ増やすことができる。このように、細胞小器官の量的調節機構は細胞という精巧な機械が自律的に機能するために必至な自己調節機構である。

ゴルジ体ストレス応答の分子機構の解明はこのような純粋に学問的な問題の解決に直結するだけでなく、医学的にも重要な物であると考えられる。小胞体ストレス応答の分子機構の解明がアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患の病態解明に大いに貢献し、フォールディング病という新たな概念を生み出したように、ゴルジ体ストレス応答の分子機構という海図を完成することによって医科学研究者の参入を容易にし、ゴルジ体関連疾患の研究が爆発的に発展することを期待している。

研究発表

口頭発表

1. 吉田秀郎 「bHLH-ZIP 型転写因子群によるゴルジ体ストレス応答の制御ネットワーク」
「情報と細胞機能」研究会 (第3回; 札幌、2010年)
2. 吉田秀郎 「小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答」
プロテオ医学研究センター学術講演 (松山、2010年)
3. 吉田秀郎 「小胞体ストレス応答と疾患」
旭川医科大学セミナー (旭川、2009年)
4. 吉田秀郎 「細胞小器官の量を調節するシグナルネットワーク」
兵庫県立大学理学部セミナー (赤穂、2009年)
5. 吉田秀郎 「細胞質スプライシングと小胞体ストレス応答」
慶應義塾大学先端生命科学研究センターセミナー (鶴岡、2009年)
6. 吉田秀郎 「小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答」
秋田大学工学資源学部セミナー (秋田、2009年)
7. 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答の分子機構：転写因子の単離」
「情報と細胞機能」研究会 (第2回; 京都、2009年)
8. 吉田秀郎 「細胞小器官の量的調節機構：小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答」
兵庫県立大学理学部セミナー (赤穂、2008年)
9. 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答の分子機構」

「情報と細胞機能」研究会 (第1回; 松山、2008年)

10. 吉田秀郎 「小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答」
東京工業大学セミナー (横浜、2008年)

誌上発表

1. Uemura, A., Oku, M., Mori, K. and **Yoshida, H.** (2009) Unconventional splicing of *XBP1* mRNA occurs in the cytoplasm during mammalian unfolded protein response. **J. Cell Sci.** 122, 2877-2886.
2. **Yoshida, H.** (2009) ER stress response, peroxisome proliferation, mitochondrial unfolded protein response and Golgi stress response. **IUBMB Life** 61, 871-879.