

## 特集 —— 圧力に対する生体応答機構の理解に向けて ——

小胞体局在タンパク質Ehg1とEhg2を利用した  
出芽酵母の高水圧環境生存戦略High-Pressure Survival Strategy of *Saccharomyces cerevisiae*  
Involving the Endoplasmic Reticulum-Localized Proteins Ehg1 and Ehg2上村 聡志<sup>1,\*</sup>Satoshi UEMURA<sup>1,\*</sup>阿部 文快<sup>2</sup>Fumiyoshi ABE<sup>2</sup>

High-pressure environments exert significant impact on cellular survival. In *Saccharomyces cerevisiae*, two endoplasmic reticulum (ER)-localized proteins, Ehg1 and Ehg2, are essential for growth under 25 MPa hydrostatic pressure. Ehg1 is a cytoplasmic peripheral membrane protein containing a critical PXP motif for its function. Ehg2 is a two-pass transmembrane protein characterized by conserved luminal domains, essential N-glycosylation sites, and a vital cytoplasmic GVPS motif. Both proteins stabilize nutrient permeases by preventing their degradation under high-pressure conditions, thereby maintaining nutrient uptake. These findings reveal a unique adaptive strategy in which ER-localized proteins preserve membrane protein integrity during mechanical stress.

[hydrostatic pressure, ER membrane protein, nutrient permease, yeast *Saccharomyces cerevisiae*]

## 1. はじめに

静水圧ストレスは我々が常にさらされているメカニカルストレスの一つである。例えば、血圧は0.0107~0.0166 MPa程度と非常に低い静水圧ストレスであり（大気圧：0.1 MPa）[1]、心臓から血液が送り出されるたびに血管がそのストレスを受け止めている。その一方で、走ったときの膝には20 MPaほどの高い静水圧ストレスが負荷される[3]。このような静水圧ストレスを日常的に受けながらも、我々がそれほど苦痛に感じることがないのは、細胞が様々な静水圧ストレスに対する適応システムを作動させているためであろう。これまでに、我々は静水圧ストレスへの適応システムを分子レベルで理解するために、出芽酵母を真核細胞のモデルとして研究を進めてきた。

100 MPa（水深10,000 mの水圧）以上の静水圧を酵母に負荷すると、生存率が著しく低下するが、25 MPa~50 MPa程度であれば、生存率にほとんど影響を与えることなく増殖することができる[4-6]。我々は非必須遺伝子の酵母破壊ライブラリを用いて、25 MPa（ここでは高圧と呼ぶ）での増殖に必須な遺伝子を網羅的に調べた[7]。その結果、アミノ酸代謝、クロマチン維持、ミトコンドリア機能、イノシトールリン脂質代謝、TORC1シグナル、膜輸送、転写/RNA分解、など様々な生命現象に関わる遺伝子が高圧下での酵母の増殖に必須であることが明らかとなった。本総説では、二つの機能未知分子（Ehg1/May24とEhg2/Mtc6）が関わる高圧ストレス適応に関して、これまでの研究経緯を含めて最近の知見を紹介する（以後、*EHG1*など遺伝子を「大文字+イタリック」、変異株を「小文字+イタリック」+Δ（*ehg1Δ*）、遺伝子産物をEhg1と表記する）[2, 8-10]。

<sup>1</sup> 〒983-8536 仙台市宮城野区福室1-15-1 東北医科薬科大学 医学部

Faculty of Medicine, Tohoku Medical and Pharmaceutical University, 1-15-1 Fukumuro, Miyagino-ku, Sendai 983-8536

<sup>2</sup> 〒252-5258 相模原市中央区淵野辺5-10-1 青山学院大学理工学部 化学・生命科学科

Department of Chemistry and Biological Science, College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University, 5-10-1 Fuchinobe, Chuo-ku, Sagami-hara 252-5258

\* Email: s-uemura(at)tohoku-mpu.ac.jp

※(at)は@に置き換えてください。

## 2. Ehg1/May24とEhg2/Mtc6の分子構造

### 2.1 機能未知遺伝子群との出会い

著者の上村は、2011年に青山学院大学の阿部分子遺伝学研究室に教員として赴任した。研究テーマについて悩んでいたとき、2008年に阿部らが報告した高圧増殖に必須な7個の機能未知遺伝子 (*MAY24*, *MTC2*, *MTC4*, *MTC6*, *DLT1*, *CSF1*, *PAR32*) に興味を惹かれた[7]。新天地で、新たなテーマを探していた自分にとって、機能が何も分かっていない未知という「まささらな遺伝子」に大きな可能性を感じたのである。任期5年の間に全ての機能を明らかにしてやろうと勢い勇んで研究を始めたが、実際はその機能について長い間糸口もつかめず、少なからずあった自信もあっけなく砕けてしまった。その中で少しでも研究を進めようと、これら遺伝子産物の細胞内局在を調べたところ、*May24*と*Mtc6*が小胞体に局在していることが明らかとなった。出芽酵母の小胞体 (endoplasmic reticulum, ER) は核の周辺 (nuclear ER, nER) と細胞膜の直下 (cortical ER, cER) にあり、*May24*と*Mtc6*はその両方に観察された (Fig. 1a)。そこで、*MAY24*と*MTC6*のそれぞれを*EHG* (ER associated high-pressure growth gene) 1と*EHG2*と新たに命名し、これら二つの遺伝子に絞って研究を進めることにした。後に、*Ehg1*や*Ehg2*は高圧環境下で栄養源輸送体の機能を健全に保つ働きがあることがわかってきたのだが (Fig. 1b) [2]、本稿では研究の時系列に沿ってまず両者の分子構造に関する知見から議論を始める。

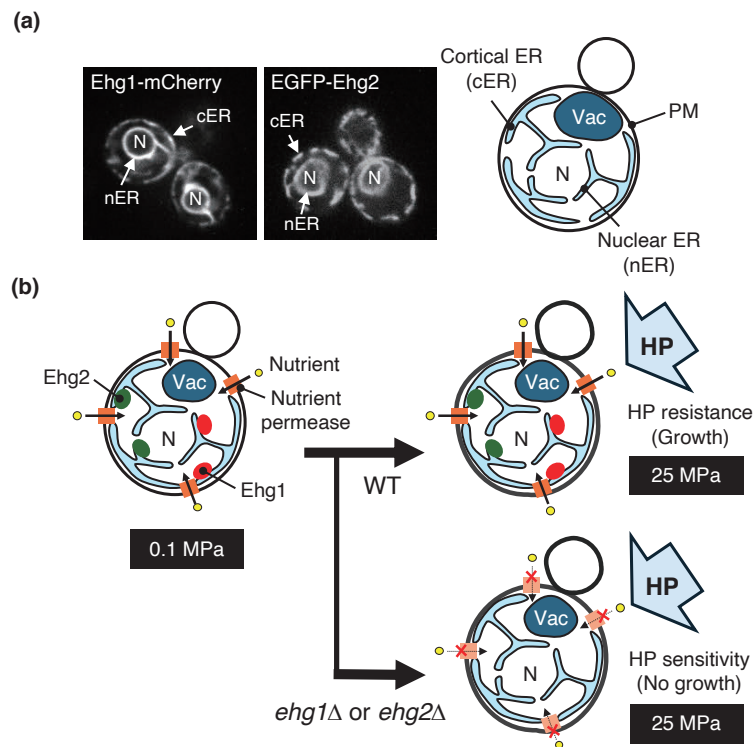


Fig. 1. (a) Subcellular localization of Ehg1 and Ehg2. Ehg1-mCherry and GFP-Ehg2 were expressed in the *ehg1Δ* and *ehg2Δ* mutants, respectively, and observed by confocal microscopy. GFP (green) and mCherry (red) are fluorescent protein tags used to visualize the location of labeled proteins. (b) The effects of hydrostatic pressure (HP) stress in wild-type (WT) and mutant cells[2]. ER: endoplasmic reticulum, N: nucleus, Vac: Vacuole, PM: plasma membrane

### 2.2 Ehg1/May24の膜トポロジーと機能ドメイン

*Ehg1*は140アミノ酸残基からなるタンパク質で、膜を貫通する可能性のある疎水性領域 (HRドメイン) が三箇所存在した (TMHMM Server v.2.0)。Ehg1は真菌類で幅広く保存されている一方で、哺乳動物ではTMEM170Aという機能未知のタンパク質がアミノ酸の相同性検索からヒットするものの、TMEM170Aの過剰発現が*ehg1Δ*変異株 ( $\Delta$ は遺伝子の欠損を表す) の高圧感受性を相補できなかったことや次に述べる膜トポロジーが一致しないことなど、幾つかの点からこの両者は機能的に異なるものという結論に至った (未発表)。Ehg1の膜トポロジーを明らかにするために、Yeast two hybrid membrane systemを使った実験を行った (Fig. 2a)。

このシステムは、ユビキチンというタンパク質を二つに分割したNub (N末側ユビキチン) とCub (C末側ユビキチン) を細胞に別々に発現させると、元のユビキチンに戻る (split ubiquitin) という性質を利用したものである。このCubには人工転写因子 (LexA-VP16) が融合しており、ユビキチンが細胞質で再構成されると酵母が持っている内因性ユビキチンプロテアーゼによってLexA-VP16が切断される。LexA-VP16は、核内へ移動してレポーター遺伝子 (*HIS3*, *ADE2*など) の転写を促す。したがって、Cubを融合させた標的のタンパク質と、Nubが細胞質側を向いたコントロールタンパク質 (ここではAlg5) を酵母に共発現させたとき、CubとNubの両方が細胞質側に存在するときのみ、レポーター遺伝子が発現する (Fig. 2b)。

最初、Ehg1のN末側とC末側のそれぞれにCubを融合させて発現させると、どちらもレポーター遺伝子がオンになることが分かった。そのため、Ehg1は膜を貫通する領域が三箇所ではなく二箇所のタンパク質で、N末側とC末側が細胞質側を向くと予想した。そこで、三箇所のHRドメインのうち、どの部分が膜を貫通しているのかを明らかにするために、それぞれのHRドメインの後ろにCubを付加した欠失変異体を作製して同様の実験をした。その結果、予想に反して、全ての変異体でレポーター遺伝子の発現がオンになった (Fig. 2b) [2]。この結果は、Ehg1には膜を貫通する領域が存在せず、小胞体の細胞質側にHRドメインを介して結合していることを意味している。

Fig. 2cの右図に示すように、Ehg1の大部分はHRドメインであり、それらが膜と強く相互作用していると考えると、膜に接していない比較的大きな領域はN末端側となる。そのため、このN末側領域の部分的な欠失変異体や点変異体を作製し、*ehg1Δ*変異株の高圧増殖低下を回復させることができるかどうかを評価した。その結果、17番目のプロリン (Pro), 18番目のフェニルアラニン (Phe), 20番目のProに変異を導入したときに高圧増殖能が消失し (すなわちEhg1の機能消失を意味する)、その一方で、これらの変異はEhg1の小胞体局在に全く影響を与えないことが明らかとなった[2]。これらアミノ酸残基は近縁の菌種でも完全に保存されており、この<sup>17</sup>Pro-<sup>18</sup>Phe-X-<sup>20</sup>Pro配列は、SH3 (Src-homology 3) ドメインと相互作用する最小コンセンサス配列 (X-P-X-X-P) と一致する。SH3ドメインは細胞内シグナル伝達に関わるタンパク質のタンパク質間相互作用を調節するためのドメインとして知られている。そのため、Ehg1の<sup>17</sup>Pro-<sup>18</sup>Phe-X-<sup>20</sup>Pro配列を介してSH3ドメインを持つタンパク質と相互作用し、高圧増殖を正に制御しているのかもしれない。

### 2.3 Ehg2/Mtc6の膜トポロジーと機能ドメイン

Ehg2は526アミノ酸からなるタンパク質で、複数の構造予測プログラムから膜を貫通する疎水性領域を二箇所持ち、N末端とC末端が細胞質側を向く膜トポロジーであると予測された (Fig. 3)。この疎水性領域は実際に膜を貫通することが明らかとなったので、膜貫通領域 (TM1とTM2) とする。このTM1とTM2の間は内腔側に位置する大きなドメインであり、そこには13箇所のアスパラギン結合型糖鎖付加配列 (コンセンサス配列: Asn-X-Ser/Thr, Xはプロリン以外の任意のアミノ酸) が存在した。また、出芽酵母の近縁種でEhg2のアミノ酸配列を比較し、相同性の高い領域をN末端側からMCD (Mtc6 conserved domain) 1~3と名付けた。MCD1とMCD2は内腔側に位置し、MCD3は細胞質基質側に位置している。また、MCD1とMCD2はアミノ酸配列上で離れているが、AlphaFoldによる立体構造予測からは近接した位置関係が予測される。

まず、Ehg2のN末側とC末側のそれぞれに3HAタグ (Triple hemagglutinin tag) やGFP (Green fluorescent protein) を付加して、Ehg2の機能に影響を与えるかを調べた。GFPは融合させたタンパク質の細胞内局在を生細胞で観察するのに有用である。しかし、分子量が大きいため、GFPを融合させるだけでタンパク質本来の機能や局在を変化させる場合がある。そのため、3HAタグのように小さな分子量の標識タグを付加させた場合と比較することも重要である。その結果、Ehg2のC末側に3HAタグやGFPを付加するとその両方で高圧増殖能が失われ、Ehg2の高圧下での機能消失が示唆された[8]。このときのEhg2の細胞内局在を調べると、N末側GFP融合型のEhg2は小胞体に局在しているのに対して、C末側GFP融合型のEhg2は小胞体だけでなく、ゴルジ体、液胞膜にも局在していた[8]。Ehg2の機能発現には小胞体への安定的な局在化が必要であると考えられたため、*in vitro*のCOPII被覆小胞形成実験でそのメカニズムを検証した。*in vitro*のCOPII被覆小胞形成実験とは、試験管内で細胞から調製した膜成分に大腸菌で調製したCOPII被覆タンパク質形成因子を加えることでCOPII被覆小胞を試験管内で形成させ、そこに標的タンパク質が濃縮されるのかを調べる解析手法である。小胞体に局在化するタンパク質は小胞体で翻訳され、このCOPII被覆小胞でゴルジ体へ運ばれた後に、すぐに逆行輸送で小胞体に戻されるのか、COPII被覆小胞に濃縮されないために小胞体に留まるかのどちらかである。この実験系を用いた解析で、小胞体に局在するN末3HA融合型のEhg2はCOPII被覆小胞に濃縮されなかったため、Ehg2はゴルジ体に搬出されることなく、小胞体に留まっていることが明らかとなった[8]。

C末端側に3HAタグやGFPを付加するとEhg2の細胞内局在が変化し、その機能が完全に消失することから、

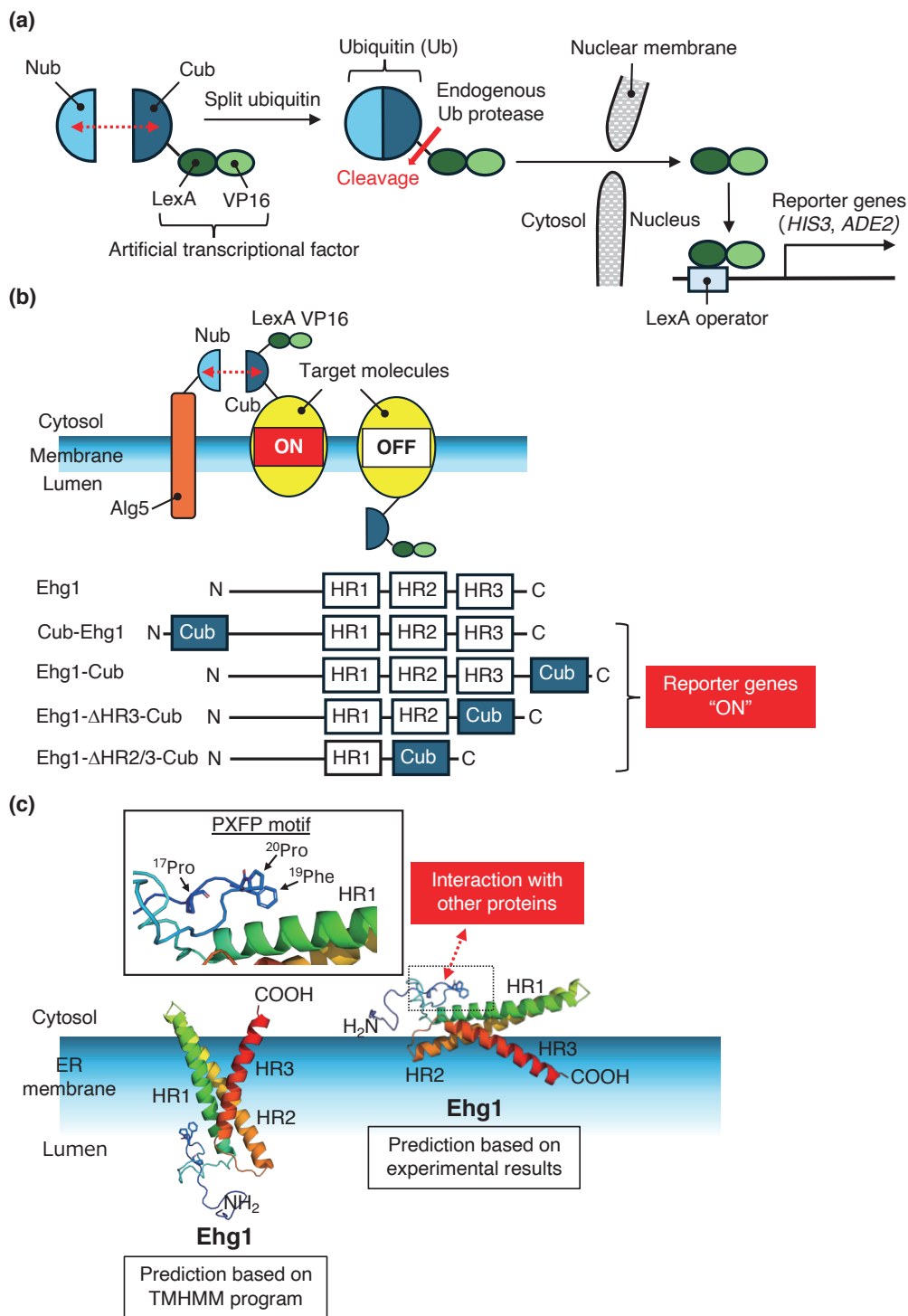


Fig. 2. Membrane topology analysis of Ehg1. (a) Principle of the yeast two-hybrid analysis based on the split-ubiquitin membrane system. (b) Results of membrane topology analysis of Ehg1. (c) Three-dimensional conformation of Ehg1 on AlphaFold Protein Structure Database (<https://alphafold.ebi.ac.uk>). HR: hydrophobic region

Ehg2のC末側のMCD3にEhg1の機能ドメインや小胞体局在化シグナルが存在すると予想した。そこで、MCD3ドメインの各種変異体を作製して、Ehg2の機能評価と細胞内局在解析から重要なアミノ酸残基を絞っていった。その結果、C末端のGly-Val-Pro-Ser (GVPS)という配列がEhg2の機能に必須であることが明らかとなった

[8]。この4つのアミノ酸を全てアラニンに変えた変異体 (GVPS/A) はEhg2の機能消失を引き起こすが、その局在は小胞体局在のままであった (Fig. 3)。つまり、C末端にGFPを融合させたEhg2-GFPの機能が消失したのは、おそらくGVPS配列がタンパク質の表層に露出しないことが原因であり、残念ながらGVPSがEhg2の小胞体局在を決める配列ではなかった。MCD1とMCD2ドメインを含めて様々な欠変異体を作製して細胞内局在を解析していったが、現時点で小胞体局在を決めているアミノ酸配列は見つかっておらず、C末端にGFPを導入したときに細胞内局在が変化する理由は謎のままである。

#### 2.4 Ehg2のN結合型糖鎖の機能

Ehg2の機能ドメインを探索している中で、MCD1とMCD2を含む内腔側の大きな領域がEhg2の機能に重要であることが分かってきた。その内腔側には13箇所のアスパラギン結合型糖鎖付加配列があることは前述べた。アスパラギン結合型糖鎖は、小胞体の内腔側で膜タンパク質や分泌タンパク質に付加され、様々な生理機能を発揮する。出芽酵母と哺乳動物のアスパラギン結合型糖鎖の構造は小胞体で付加された時点では類似している。出芽酵母では細胞内に留まるタンパク質の糖鎖構造は、基本的にそれほど大きな変化はないが、細胞外に分泌されるタンパク質の糖鎖はゴルジ体でマンノースが多く付加された巨大なマンナン糖鎖となる[11]。一方で、哺乳動物のアスパラギン結合型糖鎖はゴルジ体において様々な糖鎖修飾が起こり、多様な糖鎖構造を生み出すが、マンナン糖鎖のような巨大な糖鎖とはならない。糖鎖の生理機能はタンパク質によってそれぞれ異なるが、例えば、分泌タンパク質に付加された糖鎖はプロテアーゼ耐性を付与され[12]、膜タンパク質に付加された糖鎖は細胞膜上で糖鎖を認識するレクチンタンパク質との相互作用を通してその機能を発揮することがある[13]。また、細胞内の酵素に付加された糖鎖は立体構造の一部を担い、基質特異性を決めることもある[14]。

アスパラギン結合型糖鎖付加配列に必ず糖鎖付加が起こるというわけではないので、まず、糖鎖が付加している部位の同定から始めた。1本の糖鎖付加でわずかに分子量が増加する (1~2 kDa) ため、各アスパラギン (Asn) をグルタミンに置換した変異体を作製し、野生型と分子量をウエスタンブロッティングで比較した。その結果、<sup>156</sup>Asn以外の12箇所に糖鎖が付加していることが明らかとなった。それら1アミノ酸変異がEhg2の機能に与える影響を調べると、<sup>259</sup>Asnの変異体のみ、その機能が野生型よりも少し低下したが、それ以外について機能低下は観察されなかった。つまり、1本の糖鎖がなくなってもEhg2の機能にはほとんど影響を与えなかった。そこで、糖鎖が互いにその機能を補い合っている可能性を考え、複数の糖鎖をなくしたときにどう

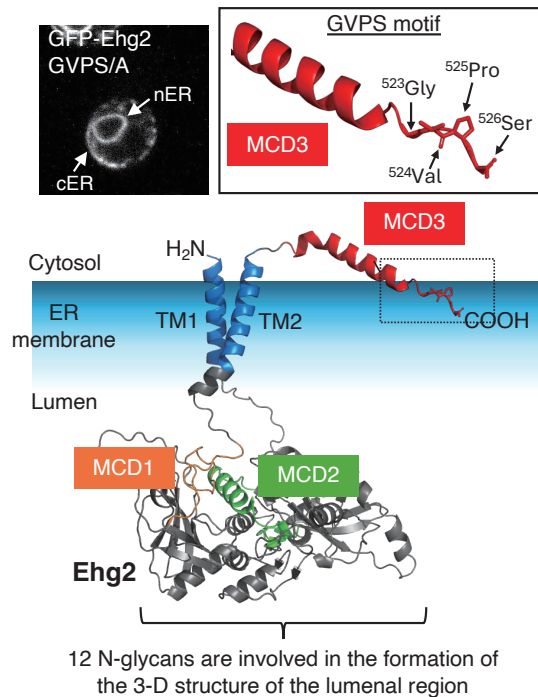


Fig. 3. Three-dimensional conformation of Ehg2 on AlphaFold Protein Structure Database. MCD: Mtc6/Ehg2 conserved domain, TM: transmembrane region

なるかも検証した。その結果、<sup>32</sup>Asn, <sup>60</sup>Asn, <sup>80</sup>Asn, <sup>89</sup>Asnの4箇所に変異を入れてもEhg2の機能に影響は出なかったが、<sup>171</sup>Asn, <sup>175</sup>Asn, <sup>202</sup>Asn, <sup>240</sup>Asnの4箇所、または<sup>311</sup>Asn, <sup>362</sup>Asn, <sup>433</sup>Asnの3箇所に変異を入れた場合にその機能が著しく低下した。おそらく、この複数の糖鎖欠失でEhg2の内腔側の立体構造に歪みが生じ、Ehg2の機能が消失したと考えられる。MCD1やMCD2がEhg2の機能に必要なことを併せて考えると、Ehg2の細胞質基質側のC末端GVPS配列だけでなく、この大きな内腔側領域にもタンパク質としての重要な構造が隠されていると予想される。

### 3. Ehg1/May24とEhg2/Mtc6Iによる栄養輸送体の機能維持

ここまで、Ehg1とEhg2の細胞内局在や分子構造の説明が続いたが、最後にEhg1とEhg2の生理機能に関して述べる。Ehg1とEhg2の機能解明に近づいた一つのブレイクスルーは、*ehg1Δ*変異体の高圧増殖能低下を回復させる挿入変異をスクリーニングし、その変異部位を同定したときだった。このときすでに研究を開始して4年が経過していた。

*ehg1Δ*変異体の高圧増殖低下を回復させたのは、ESCRT (Endosome sorting complex required for transport) 経路に関わる分子に変異が入った場合であった (未発表)。ESCRT経路とは不要になった膜タンパク質をエンドソームへ輸送し、マルチベスキュラーエンドソーム (MVE) 形成を経て、膜タンパク質を液胞 (動物細胞のリソソームに相当) で分解する経路である。つまり、この経路の異常が*ehg1Δ*変異体の高圧増殖を可能にするということは、*ehg1Δ*変異により、高圧ストレス下での増殖に必須な分子の分解亢進が起きていることを示唆している。もしそうであるならば、Ehg1が相互作用するタンパク質がその候補分子になるのではないかと考え、Yeast two-hybrid membrane systemを用いて、Ehg1のパートナー分子を探索したが、めぼしい候補は見つからなかった。また、このESCRT関連分子の変異で高圧増殖を回復したのは*ehg1Δ*変異体だけでなく、そのほかの機能未知遺伝子の変異体 (*mtc2Δ*, *ehg2Δ*, *mtc4Δ*, *dlt1Δ*変異体) においても同様の効果が認められた。

そのような中で、Ehg1の研究を一緒に行っていた大学院生が、複数の栄養要求性を回復させると、*ehg1Δ*変異体の高圧増殖が大幅に回復することに気がついた。これが二つ目のブレイクスルーである。自然界の酵母は炭素源と窒素源 (グルコースやアンモニウムイオンなど) を細胞内に取り込めば、全ての栄養を自分で合成することができるが、実験室酵母は特定の栄養を作ることができないよう遺伝的に操作されている。そのため、自分で合成できない栄養素は外から取り込む必要があり、これが栄養要求性である。このとき使っていた*ehg1Δ*変異体の栄養要求性は、ヒスチジン、ロイシン、ウラシル、リシンであり、このうちリシン以外の三つを同時に生合成できるようにすると、高圧下でも野生型と同じように増殖するようになったのである [2]。この研究成果をもとに、全ての高圧増殖関連遺伝子について、ヒスチジン、ロイシン、ウラシルの三つを同時に自らで合成できるようにし、高圧増殖を測定した。その結果、他の機能未知遺伝子 (*MTC4*, *DLT1*, *MTC2*, *CSF1*, *PAR32*, *AVL9*) だけでなく、ミトコンドリア機能 (*MRF1*, *MRPL38*)、膜輸送 (*VID24*, *CHC2*)、エルゴステロール合成 (*ERG3*, *ERG24*, *ERG6*, *ERG2*)、イノシトールリン酸代謝 (*ARG82*)、転写/RNA分解 (*SHE3*, *SAP155*, *SLM3*, *TAF14*)、ストレス反応 (*HSP31*) に関わる遺伝子の欠失変異体が高圧下で増殖できるようになった [2]。これら遺伝子変異による高圧増殖低下の原因に共通点があるということである。

ヒスチジン、ロイシン、ウラシルを取り込む輸送体はそれぞれHip1, Bap2, Fur4である。*ehg1Δ*変異体や*ehg2Δ*変異体は通常の培養条件下で野生株と同じように増殖するので、これら輸送体の機能低下は高圧条件下のみで起こっている。実際に、これら変異体を高圧下で培養するとHip1, Bap2, Fur4の発現量が野生型よりも低下し、栄養の取り込みも低下した [2, 8]。つまり、高圧条件下で培養したESCRT経路の変異体で分解が抑制されていたのは、おそらくこれら栄養源輸送体だったのだろう。

25 MPaという圧力の作用点は主に細胞膜である。この圧力は細胞膜中にある間隙を小さくすることで膜をパッキングし、膜の剛直性を上昇させるものと考えられる [15, 16]。膜タンパク質であるトリプトファン輸送体 (Tat1やTat2) はこの変化を鋭敏に感知し、その分解を促進させるというのは以前より示されていた [17]。これは野生型酵母で起こる現象であるが、*ehg1Δ*変異体や*ehg2Δ*変異体ではTat1やTat2だけでなく、他の輸送体でもこの圧力依存的な分解が亢進しているのである。逆に、多くの輸送体はEhg1やEhg2のおかげで圧力依存的な分解亢進が抑制されているということもできる。なぜこのようなことが起こるのか。その明確な答えにまで辿り着けていないが、このメカニズムを少し考えてみる。

タンパク質の発現量が減少するという事は、小胞体で合成される新生輸送体が圧力負荷によってうまくフォールディングできず、細胞膜ではなく液胞に運ばれて分解されること、または、細胞膜上の輸送体が圧力による構造変化を引き起こすことで構造安定性が低下し、積極的に液胞へ輸送されて分解されることなど

が想定される (Fig. 4)。Ehg1とEhg2の両者は小胞体に局在する。Ehg1は栄養源輸送体との弱い相互作用が確認されたが[2], Ehg1は小胞体の細胞質側の膜表面に結合しているため、栄養源輸送体の細胞質側領域と相互作用していると考えられる。この相互作用はEhg1の<sup>17</sup>Pro-<sup>18</sup>Phe-X-<sup>20</sup>Pro 配列の変異でなくなり、Ehg1の機能が発揮できなくなる[2]。栄養源輸送体のような複数回膜を貫通するような膜タンパク質のフォールディングがどのように起こるのか、全てが解明されているわけではないが、Ehg1のように細胞質側に存在するタンパク質が、直接的な相互作用があるからといっても、小胞体での栄養源輸送体のフォールディングに関与する可能性は低いと考えざるを得ない。一方で、Ehg2は2回膜貫通型のタンパク質で、内腔側に機能的に重要なドメインを持つが、直接的な相互作用は観察されなかった[8]。Ehg2がタンパク質フォールディングに関与する可能性は考えられるものの、それは直接的ではなく間接的な作用であろう。

では、細胞膜に存在する栄養源輸送体の安定性を小胞体タンパク質が直接的に制御することができるのだろうか。出芽酵母の細胞膜の直下に存在する小胞体 (cER) は細胞膜と近接した場所があり (10~30 nm), そういった場所であればEhg1が細胞膜にある栄養源輸送体の細胞質側領域と直接相互作用し、圧力負荷時の安定化に寄与することは可能かもしれない。Ehg2もC末端GVPS配列が間接的に細胞膜上の輸送体の安定性を維持することも不可能ではない。これらの検証は今後の課題である。いずれにせよ、出芽酵母は静水圧負荷により膜状態の著しい変化が起こったときでも、栄養源輸送体を安定的に細胞膜に発現し続けるためにEhg1やEhg2を利用しているのである。

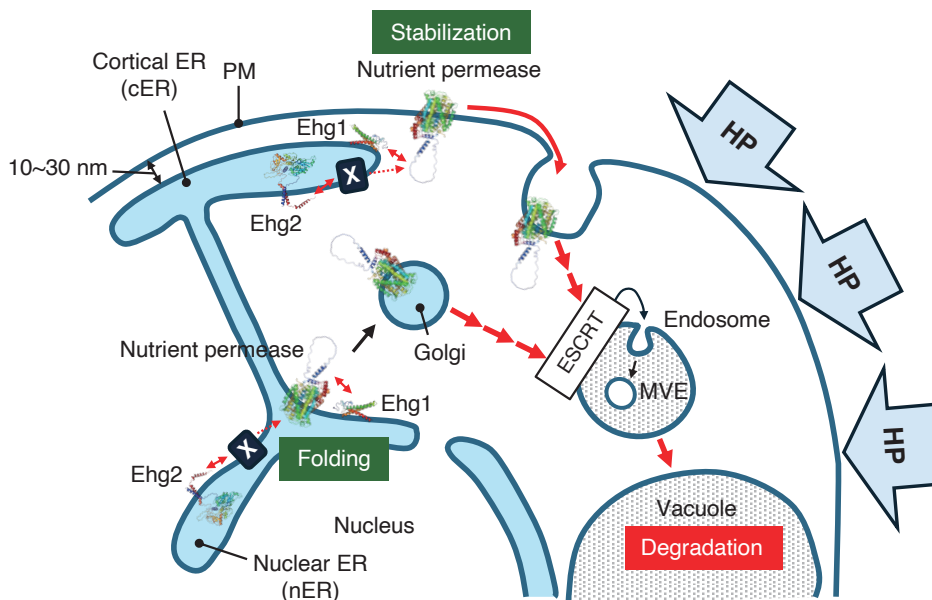


Fig. 4. Physiological function model of Ehg1 and Ehg2 under hydrostatic pressure (HP). MVE: multivesicular endosome

#### 4. おわりに

Ehg1に関する最近の研究は著しい進展を見せており、本総説の結びとして我々の最新の知見を含めて簡潔に紹介しておきたい。Ehg1は高圧環境下で高親和性トリプトファン輸送体 (Tat2) を安定化させることを以前に報告した[10]。最近発表した我々の研究では、この安定化にはcortical ERに局在するEhg1が関与しており、細胞膜上のTat2とEhg1のPXFPモチーフを介した直接的な相互作用が機能的に重要であることを示唆するデータを得ている[18]。こうした機構が他の栄養源輸送体にも普遍的に働くかどうかは、今後のさらなる検証が必要である。その一方で、現在、Ehg1が機能未知分子の一つであるCsflと相互作用することを示す論文がプレプリントサーバー上に公開されている。CsflはVps13やAtg2のように環状の構造を持つ非小胞輸送型の脂質輸送体であると考えられているのだが[19], Ehg1はスクランブラーゼとしてCsflにリン脂質を供給する働きがあることが示唆されている。また、その論文では、Ehg1とヒトホモログTMEM170Aが同等の機能を持つ

ことが前提とされているが、我々の実験は機能的に等価であると結論づけられなかった（未発表）。Ehg1とTMEM170Aが本当に同一機能・同一膜トポロジーを持つのか、再検証が必要である。

Ehg2については、AlphaFoldの出現で可能となった立体構造の相同性検索によると、内腔側の一部の領域がPhosphoinositide phosphatase C1と類似性が高いと予測される。Ehg2が膜脂質代謝に関与すると仮定すれば、*ehg2Δ*変異によって、小胞体膜や細胞膜の脂質組成が変化し、高圧環境下で栄養源輸送体のフォールディング異常や不安定化が生じる可能性がある。これはEhg2と栄養源輸送体との直接相互作用が検出されないこと、複数の輸送体に影響が及ぶこととも整合性がとれる。

高圧研究を端緒として光が当たったEhg1とEhg2は、14年を経てその機能の全容解明に向けた最終段階に差しかかっている。高圧ストレス応答におけるこれら小胞体局在タンパク質の真の役割は、今後の解析により新たな展開を迎えるだろう。

## 謝 辞

本研究は主に青山学院大学理工学部の分子遺伝学研究室で実施したもので、多くの優秀な学生たちの協力で得られた研究成果です。また、青山学院大学の望月 貴博 博士、三岡 哲生 博士（現客員研究員）、東京大学大学院農学生命科学研究科の野田 陽一 博士には多大な実験のご協力と貴重なご意見をいただきました。ここに記すとともに、深く感謝申し上げます。なお、本研究の一部は、科学研究費(No. 18K05397, 22H02247, 22K05561) による助成を受けて行われました。

## 参考文献

- [1] D.B. Camasao, D. Mantovani: *Mater. Today Bio.*, **10**, 100106 (2021).
- [2] G. Kurosaka, S. Uemura, T. Mochizuki, Y. Kozaki, A. Hozumi, S. Suwa, R. Ishii, Y. Kato, S. Imura, N. Ishida *et al.*: *Sci. Rep.*, **9**, 18341 (2019).
- [3] W.A. Hodge, R.S. Fijan, K.L. Carlson, R.G. Burgess, W.H. Harris, R.W. Mann: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **83**, 2879 (1986).
- [4] H. Iwahashi, S.C. Kaul, K. Obuchi, Y. Komatsu: *FEMS Microbiol. Lett.*, **64**, 325 (1991).
- [5] F. Abe: *FEBS letters*, **581**, 4993 (2007).
- [6] F. Abe, K. Horikoshi: *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 8093 (2000).
- [7] F. Abe, H. Minegishi: *Genetics*, **178**, 851 (2008).
- [8] S. Uemura, T. Mochizuki, Y. Kato, T. Mioka, R. Watanabe, M. Fuchita, M. Yamada, Y. Noda, T. Moriguchi, F. Abe: *J. Biochem.*, **176**, 155 (2024).
- [9] Y. Kato, T. Mioka, S. Uemura, F. Abe: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **88**, 1055 (2024).
- [10] G. Kurosaka, F. Abe: *High Press. Res.*, **38**, 90 (2017).
- [11] P. Orlean: *Genetics*, **192**, 775 (2012).
- [12] Y. Weng, T. Ishino, A. Sievers, S. Talukdar, J.R. Chabot, A. Tam, W. Duan, K. Kerns, E. Sousa, T. He *et al.*: *Sci. Rep.*, **8**, 4241 (2018).
- [13] J.D. Marth, P.K. Grewal: *Nat. Rev. Immunol.*, **8**, 874 (2008).
- [14] S. Uemura, T. Moriguchi: *Glycobiology*, **32**, 778 (2022).
- [15] R. Winter: *Biochim. Biophys. Acta.*, **1595**, 160 (2002).
- [16] H. Matsuki, M. Goto, K. Tada, N. Tamai: *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 2282 (2013).
- [17] F. Abe, H. Iida: *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 7566 (2003).
- [18] Y. Kato, T. Mochizuki, T. Mioka, T. Kishimoto, F. Abe: *Mol. Biol. Cell*, **36**, ar100 (2025).
- [19] A. Toulmay, F.B. Whittle, J. Yang, X. Bai, J. Diarra, S. Banerjee, T.P. Levine, A. Golden, W.A. Prinz: *J. Cell Biol.*, **221**, e202111095 (2022).

[2025年7月4日受付, 2025年12月20日受理]

©2026 日本高圧力学会