

脂質輸送に関与する ABC 蛋白質の生理的基質と機能の解明

Physiological substances and functions of ABC proteins involved in lipid transport

植田 和光 (UEDA KAZUMITSU)

京都大学・物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS)・教授



研究の概要

ABC 蛋白質は、一群の ATP 依存輸送体の総称であり、地球上のほぼすべての生物に保存されている。ヒト染色体上には 48~49 種の ABC 蛋白質がコードされ、それらの異常がさまざまな疾病と関係している。本研究では、疾病との関係が報告されているにもかかわらず、機能などが不明な ABC 蛋白質の輸送基質の同定、生理的役割の解明、輸送機構と制御機構の解明をめざす。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用生物化学

キーワード：動物生化学、膜輸送タンパク質

1. 研究開始当初の背景

ABC 蛋白質は、12~17 の膜貫通 α ヘリックスとアミノ酸配列がよく保存された ATP 結合領域をもつトランスポーターファミリーであり、ATP Binding Cassette を略して名付けられた。大腸菌からヒトまで、地球上のほぼすべての生物で重要な機能を果たしている。ヒト染色体上には 48~49 種類の ABC 蛋白質遺伝子が存在する。これまでに、我々の研究を含め世界の多くのグループの研究から、多くの ABC 蛋白質が内在性脂質の体内輸送に関与し、それらの破綻がさまざまな疾病と密接に関係していることが分かってきた。しかし、脂溶性物質を基質とする輸送体の直接の基質を同定することは容易ではなく、いまだ輸送基質や生理的役割、制御機構が解明されていない ABC 蛋白質が数多く存在する。特に、コレステロールなど脂質輸送に関わる ABC 蛋白質の異常は、動脈硬化、糖尿病、皮膚障害、精神障害、老人性の失明、痛風など現在人がかかわる多くの疾病に関係する。ABC 蛋白質の作用機構、制御機構、生理的役割を明らかにすることは、現在人がかかわるこれらの疾病の予防や治療を考える上で重要である。

2. 研究の目的

疾病との関係が報告されているにもかかわらず基質やメカニズムが解明されていない ABC 蛋白質の輸送基質の同定、輸送機構を解明するとともに、生理的役割を解明する。さらに、相互作用する化合物や制御方法を開

発することによって、動脈硬化、糖尿病、皮膚障害、精神障害、老人性の失明など多くの疾病の予防や治療に貢献することをめざす。

3. 研究の方法

ヒト・マウスの生理的に重要な ABC 蛋白質を特異的に発現させた細胞を用いて、それぞれの ABC 蛋白質の作用メカニズム解析するとともに、制御メカニズムを解明する。それぞれの ABC 蛋白質の精製条件の最適化を行い、精製蛋白質を用いた活性測定系を用いて、阻害剤・活性化剤のスクリーニングを行う。さらに、特異的抗体を作成し、発現組織の解析を行う。結晶化条件の最適化と ABC 蛋白質の 3 次元構造解析を行い、構造に基づいた作用メカニズム・制御メカニズム解明を行う。さらに、生理的役割の解明をめざす。

4. これまでの成果

(1) ABCA1 の新規な翻訳後制御機構の発見

末梢組織の余剰コレステロールは高密度リポ蛋白質 (HDL) として血液中を肝臓へと逆輸送される。ABCA1 は HDL 形成の鍵を握るトランスポーターであり、コレステロール蓄積時に活性化される核内転写因子 LXR によって転写が促進され、過剰コレステロールは細胞外へ排出される。しかし、コレステロールは細胞にとって必須であり、過剰排出は細胞にとって有害である。そこで、ABCA1 の活性はリン酸化やさまざまな分解経路によって制御されている。

本研究では、ABCA1 の転写制御を行う核内転写因子 LXRβ が ABCA1 と直接相互作用することを見出した。LXRβ は細胞膜上の ABCA1 の C 末端付近に直接結合し、ABCA1 の ATP 結合を阻害する。その結果、ABCA1 のエンドサイトーシスと分解が抑制され、細胞膜上の ABCA1 が増加する。しかし、ABCA1/LXRβ 複合体は不活性で HDL を産生できない。コレステロールが蓄積すると LXRβ は ABCA1 から遊離し、ABCA1 の活性が直ちに回復し、余剰コレステロールが排出されることを世界で初めて明らかにした (Hozoji 2008, 2011)。この制御機構は、マクロファージが死細胞を貪食した時などの急激なコレステロール濃度上昇に即時に反応するために重要と考えられる。核内受容体として知られる LXRβ が、核外において、しかも自らが転写制御する膜蛋白質である ABCA1 と結合し、その活性と分解を制御するという発見は、核内受容体の概念を覆すものであり、トランスポーター研究だけでなく、核内受容体研究にも影響を与える。

(2) 1 分子観察と生化学的解析の融合による HDL 形成機構の解明

ABCA1 がどのような機構で過剰コレステロールを apoA-I に受け渡し、HDL を産生するか不明であった。本研究では、全反射顕微鏡を用いた ABCA1 の 1 分子観察実験によって、HDL 形成の初期段階を観察することに成功した。ABCA1 は、過剰コレステロールを ABCA1 の細胞外ドメインあるいは周辺に溜め、細胞膜上で静止しており、apoA-I に脂質を受け渡すと細胞膜上を動き回ることによって、過剰コレステロールを集めるという特徴ある動きをすることが明らかになった。生化学的解析 (Hozoji 2009, Nagao 2009) と融合することによって、細胞膜上で ABCA1 が HDL を形成するメカニズムが明らかになりつつある。

5. 今後の計画

これまでに、ABC 蛋白質と特異的に相互作用する化合物を複数見出すことに成功している。今後、これらの化合物を用いた ABC 蛋白質の生理的役割の解明が進展すると期待できる。また、双極性うつ病との関連が示唆されている ABCA13 に対する抗体を作成することによって、ABCA13 が神経細胞の特殊なドメインで機能していることもわかりつつある。さらに、ABC 蛋白質の高解像度の 3 次元構造解析も進みつつある。これらの研究を地道に積み重ねることによって、さまざまな疾病に関係する ABC 蛋白質の作用メカニズム、制御メカニズム、生理作用をひとつひとつ確実に解明していくことをめざす。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) 原著論文

- (1) Hozoji-Inada, M., Munehira, Y., Nagao, K., Kioka, N., and Ueda, K., LXRβ directly interacts with ABCA1 to promote HDL formation during acute cholesterol accumulation. *J Biol Chem.* (2011) in press
- (2) Hozoji, M., Kimura, Y., Kioka, N., and Ueda, K. Formation of two intramolecular disulfide bonds is necessary for apoA-I-dependent cholesterol efflux mediated by ABCA1. *J. Biol. Chem.* 284, 11293 - 11300 (2009)
- (3) Nagao, K. Zhao, Y., Takahashi, K., Kimura, Y., and Ueda, K. Sodium taurocholate-dependent lipid efflux by ABCA1-Effects of W590S mutation on lipid translocation and apoA-I dissociation. *J. Lipid Res.* 50, 1165-1172 (2009)
- (4) Azuma, Y., Takada, M., Shin, H-W., Kioka, N., Nakayama, K., Ueda, K. The retroendocytosis pathway of ABCA1/apoA-I contributes to HDL formation. *Genes Cells* 14, 191-204 (2009)
- (5) Azuma, Y., Takada M., Maeda, M., Kioka, N., and Ueda, K., The COP9 signalosome controls ubiquitinylation of ABCA1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 382(1), 145-148 (2009)
- (6) Hozoji, M., Munehira, Y., Ikeda, Y., Makishima, M., Matsuo, M., Kioka, N., Ueda, K. Direct interaction of nuclear receptor LXRβ with ABCA1 modulates cholesterol efflux. *J. Biol. Chem.* 283, 30057-30063 (2008)

総説など

- (1) Nagao, K., Tomioka, M., and Ueda, K., Function and regulation of ABCA1-Membrane meso-domain organization and re-organization, *FEBS J.* in press
- (2) Ueda, K. ABC proteins protect human body and maintain optimal health, *Biosci Biotechnol Biochem*, 75, 401-409 (2011)
- (3) Nagao, K., Kimura, Y., Matsuo, M., and Ueda, K. Lipid outward translocation by ABC proteins, *FEBS Lett.* 584, 2717-2723 (2010)
- (4) 植田和光 コレステロール恒常性の転写制御と翻訳後調節 *生体の科学*, 60, 570-578 (2009)

受賞

平成 22 年度日本農芸化学会賞受賞

ホームページ等

<http://www.biochemistry.kais.kyoto-u.ac.jp/>