

生体物質の恒常性維持にかかわる輸送体の機能の解明

ABC タンパク質は ATP のエネルギーを利用する輸送体で、体の脂質恒常性の維持や有害な化合物からの体の保護等、重要な役割を果たしています。細胞生化学研究室ではヒトに存在する 48 種類の ABC タンパク質のうち、善玉コレステロールとして知られる HDL を作るタンパク質(ABCA1)や体を有害な化合物から守るタンパク質(MDR1、p-glycoprotein)などを対象として研究を行っています。

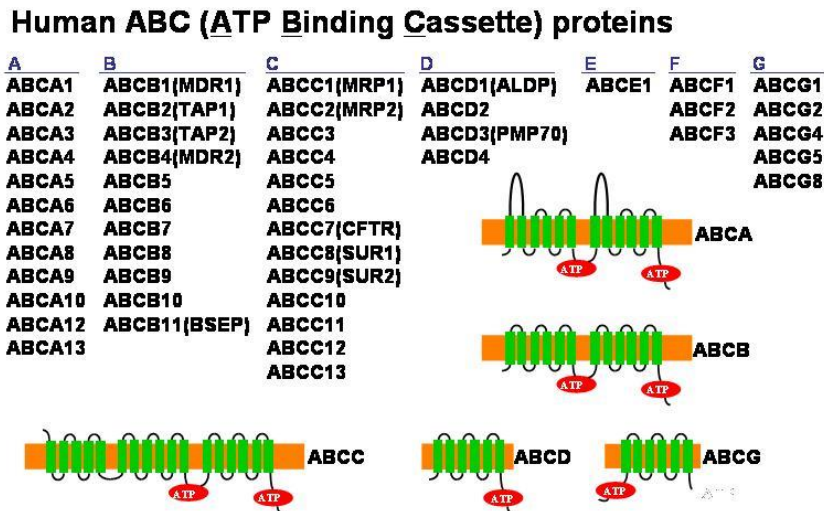


図1 48種類のヒトABCタンパク質遺伝子とABCタンパク質の代表的な二次構造

高密度リポタンパク質(HDL)形成にかかわるABCタンパク質の機能解析

コレステロールは細胞や体にとって必須の化合物で、細胞膜を適切な状態に保ち、ステロイドホルモンの前駆体となるなど重要な生理機能を持っています。食事中からとりこまれたコレステロールは肝臓から低密度リポタンパク質(LDL)として全身の末梢細胞に運ばれます。末梢細胞ではコレステロールを代謝できないため、余剰となったコレステロールは高密度リポタンパク質(HDL)の形で肝臓へと戻されます。LDLもHDLも本来体に必要なものですが、コレステロールが十分食べられる現代の食生活では、コレステロールが蓄積してしまうことで生じる動脈硬化症などの病気が問題となります。LDLは末梢にコレステロールを送り届け、末梢のコレステロールを増やして動脈硬化症の発症を助長することから悪玉コレステロールと呼ばれます。一方、HDLは末梢のコレステロールを除去し、その血中量や産生量が動脈硬化症の発症と負に相関することから、善玉コレステロールとして知られています。

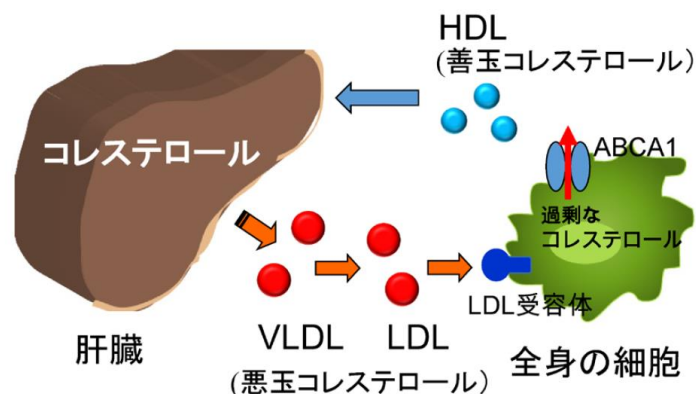


図2 LDLとHDL

ABCA1 は ATP の結合、加水分解のエネルギーを輸送して血中のアポリポタンパク質 A-I(apoA-I)にコレステロールとホスファチジルコリンを輸送し、HDL の前駆体となる粒子を産生します。ABCA1 に遺伝的変異があるとタンジール病と呼ばれる血中 HDL 濃度が大きく減少してしまう遺伝病を発症する事からも ABCA1 が HDL の形成に中心的な役割を果たしていることがわかります。細胞生化学研究室ではこの ABCA1 の機能に着目し、培養細胞レベル、タンパク質レベルでの解析を行っています。

精製ヒト ABCA1 による HDL 形成機構の解明：ABCA1 がどのようにして HDL を形成するのか、その詳細は明らかにされていません。細胞生化学研究室ではヒトの ABCA1 を精製し、精密な生化学解析によってその詳細を明らかにしようとしています。精製タンパク質を用いることで、他のタンパク質の影響や細胞による活性の制御の影響などを排除できるため、いわば雑音のない状態で、ABCA1 が起こす反応をとらえようとしています。

培養細胞を用いた ABCA1 の機能解析：ABCA1 の機能を解析するためには実際の細胞内で ABCA1 がどのように働いているのかも知る必要があります。そこで様々な動物細胞を使って ABCA1 が実際に体の中でどのように働いているのかを調べています。

生体防御に関連する ABC タンパク質の機能解析

我々が生活している環境中には様々な毒物があります。例えば多くの植物は自分の身を守るため(食害を防ぐため)、有害な化合物を持っています。我々の祖先はこうした植物を食べ、命をつないできました。我々が様々な植物を食しても健康でいられるのはなぜか。その理由の一つとして我々の体には有害な化合物を認識して積極的に体外へと排出する機構があることがあげられます。多剤排出ポンプ(MDR1、p-glycoprotein)は小腸上皮細胞や腎臓、血液脳関門などに発現し、我々の体や重要な臓器を有害な化合物から保護しています。多剤排出ポンプの最も大きな特徴は、構造に関連性のない、様々な形の化合物を輸送できることにあります。一般的にタンパク質は特定の化合物を認識することが多いため(鍵と鍵穴の関係にたとえられます)、多様な薬物を認識できるという MDR1 の能力は非常に珍しいものと言えます。細胞生化学研究室では多剤排出ポンプの構造生物学的解析、生化学的解析を通じて多剤排出ポンプがどのようにして多様な化合物を認識し、細胞外へと輸送するのかを明らかにしようとしています。

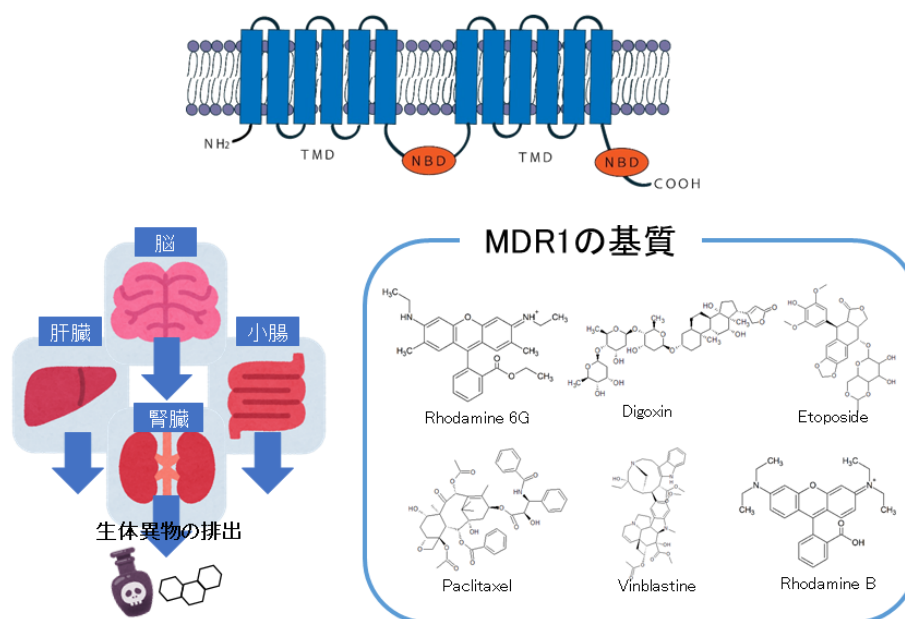


図3 MDR1 は多様な構造の脂溶性化合物を排出し、臓器を保護している

多剤排出ポンプの構造生物学的解析：ヒトの多剤輸送体とよく似た基質特異性を持つタンパク質を、温泉に生息する好熱性紅藻(シゾン)から単離し、世界最高分解能で輸送前後の構造を決定することに成功しました。この研究から多剤排出ポンプが疎水性アミノ酸からなるクラスター構造によってさまざまな構造の化合物を認識し、絵の具のチューブを絞り出すようにして化合物を細胞外へと排出する機構が明らかとなりました。

多剤排出ポンプの生化学的解析：多剤排出ポンプが実際の体の中でどのようにして化合物を輸送しているかを明らかにするためには、立体構造情報以外に直接その活性を評価することも必要です。そこでヒト多剤排出ポンプを精製し、ATP加水分解活性などを指標に機能解明を行っています。タンパク質の発現にはヒト由来の培養細胞を用いており、我々の体の中で起こっている反応を忠実に解析できると考えられます。本研究項目によって、多剤排出ポンプが脂質など周囲の環境によってどのように制御されるのか、そもそも多剤輸送体はどのようにして誕生してきたのかなどを明らかにしようとしています。