

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2008～2012

課題番号：20228001

研究課題名 (和文) 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

研究課題名 (英文) Physiological substances and functions of ABC proteins involved in lipid transport

研究代表者

植田 和光 (KAZUMITSU UEDA)

京都大学・物質-細胞統合システム拠点・教授

研究者番号：10151789

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. 研究計画の概要

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の脂質輸送に関わる 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。

本研究は、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、制御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している。

2. 研究の進捗状況

(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を細胞外へ排出する。しかし、コレステロールは細胞にとって必須であり、過剰排出は過剰蓄積と同様に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 LXR β が ABCA1 と直接相互作用し、HDL 産生活性を制御することを見出した。LXR β 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/LXR β 複合体は不活性で HDL を産生しない。コレステロールが蓄積すると LXR β 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食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 LXR β 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 に脂質を受け渡した後、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を明らかにした。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。

(3) ABC 蛋白質と特異的に相互作用する化合物の探索、抗体を用いた ABC 蛋白質の生理的役割の解明も順調に進んでいる。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 本研究で明らかにした ABCA1 の新規な翻訳後制御機構は、膜蛋白質の翻訳後制御と核内受容体の概念を大きく覆す可能性がある。また、全反射顕微鏡を用いた 1 分子追跡実験が生細胞中の輸送体の作用の解析に有効であることを、世界で初めて示すことができた。さらに、高解像度の 3 次元構造解析に成功しつつある。これらの研究によって、当初の予想を超える成果が見込まれる。

4. 今後の研究の推進方策

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。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

(1) Hozoji-Inada, M., Munehira, Y., Nagao, K., Kioka, N., and Ueda, K., LXR β directly interacts with ABCA1 to promote HDL formation during acute cholesterol accumulation. *J Biol Chem.* (2011) 印刷中 査読有

(2) Hozoji, M., Kimura, Y., Kioka, N., and Ueda, K. Formation of two intra molecular

disulfide bonds is necessary for apoA-I-dependent cholesterol efflux mediated by ABCA1. *J. Biol. Chem.* 284, 11293 - 11300 (2009) 査読有

(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) 査読有

(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) 査読有

(5) Hozoji, M., Munehira, Y., Ikeda, Y., Makishima, M., Matsuo, M., Kioka, N., Ueda, K. Direct interaction of nuclear receptor LXR β with ABCA1 modulates cholesterol efflux. *J. Biol. Chem.* 283, 30057-30063 (2008) 査読有

[学会発表] (計 55 件)

(1) Ueda, K. Mechanism and regulation of HDL formation by ABCA1. The 3rd SFB symposium "Transmembrane Transporters in Health and Disease", 2010. 9. 4. Vienna, Austria 招待講演

(2) Ueda, K. A novel post-translational regulation of ABCA1 for HDL formation in acute cholesterol accumulation. 6th IAS-Sponsored Workshop on High Density Lipoproteins, 2010. 5.19. Whistler, Canada 招待講演

(3) Ueda, K. Mechanism and regulation of HDL formation by ABCA1. 3rd FEBS Special Meeting "ABC Proteins" 2010.3.3 Innsbruck, Austria, 招待講演

(4) Ueda, K. ABCA1: Mechanisms and regulations of HDL formation. 5th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences "Bioactive Lipid Molecules and Transporters" 2009. 5.25. Tokyo, 招待講演

[図書] (計 1 件)

Nagao, K., Hozoji-Inada, M., Azuma, Y., and Ueda, K. ABCA1-Mediated HDL Formation: Mechanism and Regulation in "The ABC transporters of human physiology and disease" ed by Linton, K. and Holland, IB. World Scientific Publishing Co. 印刷中

[その他]

受賞

平成 22 年度日本農芸化学会賞受賞

ホームページ

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