

News Release

2013年3月6日

京都大学 物質－細胞統合システム拠点



国立大学法人京都大学（総長：松本紘）は、善玉コレステロール（HDL※1）産生の初期段階を可視化することに成功しました。この成果は、動脈硬化症の予防や治療法の開発につながると期待されます。

植田和光京都大学物質－細胞統合システム拠点（iCeMS=アイセムス）教授、**永田紅** iCeMS 特定拠点助教、**楠見明弘** iCeMS 教授らの研究グループは、HDL の産生に必須である膜タンパク質 ABCA1（ATP-binding cassette protein A1※2）を 1 分子レベルで観察し、HDL ができる最初の段階を可視化することに世界で初めて成功しました。

健康診断の血液検査での指標として用いられているように、血中 HDL 量の多い人は動脈硬化症を発症しにくいことがわかっています。しかし、アポリポタンパク質（※3）とコレステロールの複合体である HDL がどのようなメカニズムでできるかは明らかになっていませんでした。

本研究では、細胞内の過剰なコレステロールを排出する能力をもつ ABCA1 が、細胞膜上で二量体（※4）を形成することが、HDL ができる過程で重要であることが初めて示されました。この結果は、HDL ができるメカニズムを解き明かすうえで重要であり、本成果をさらに発展させることで動脈硬化症の予防や治療法の開発につながると期待されます。

本研究は、文部科学省科学研究費補助金「基盤研究 S」の他、内藤記念科学振興財団および農研機構・生物系特定産業技術研究支援センターの支援を受けておこなわれました。本研究成果は、米国東部時間 3 月 11 日（日本時間 12 日 5 時）に米科学誌「アメリカ科学アカデミー紀要（PNAS）」電子版で公開されました。

1. 背景

コレステロールは細胞膜の主要な構成成分として、またホルモンの前駆体として、生体にとって重要な成分ですが、細胞内に過剰に蓄積すると害を及ぼし、動脈硬化の原因となります。したがって、体内のコレステロール恒常性を維持することは重要です。

血液検査の結果で目にする事の多い「善玉コレステロール (HDL)」は、実はコレステロールだけから成っているのではなく、コレステロールやリン脂質などの脂質を2分子のアポリポタンパク質と呼ばれるタンパク質が束ねた、脂質とタンパク質の複合体です。全身の細胞でコレステロールが過剰になると、コレステロールは細胞膜上で働く ABCA1 という膜タンパク質の働きによって細胞外へと運び出され、血中を流れているアポリポタンパク質へと受け渡されます。HDL 複合体は肝臓へ運び戻され、体内のコレステロールの恒常性が維持されます (図1)。

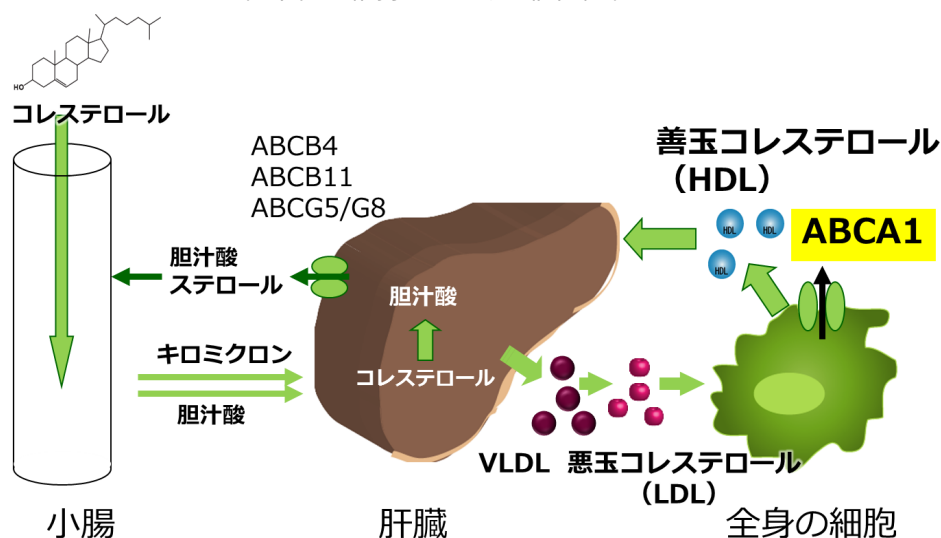


図1：体内のコレステロールの循環

ABCA1 は、血中 HDL が消失する遺伝病であるタンジール病 (※5) の原因遺伝子として 1999 年に発見され、HDL 形成に必須であることが明らかにされました。ABCA1 は、ATP のエネルギーを利用してさまざまな物質を輸送する ABC タンパク質 (※6) というトランスポーターの一種であることから、コレステロールが ABCA1 によって動かされ、HDL ができると予想されていましたが、どのようなメカニズムでできるかはわかっていませんでした。

本研究では、細胞膜上の ABCA1 とアポリポタンパク質を1分子レベルで観察し、HDL ができる初期段階を可視化することに成功しました。それによって、HDL ができる過程で ABCA1 が一時的に二量体となって、アポリポタンパク質にコレステロールを受け渡すことが明らかになりました。

2. 研究内容と成果

今回、本研究グループは全反射照明蛍光顕微鏡を用い、細胞膜上の ABCA1 分子 (緑色蛍光タンパク質=GFP を融合し、蛍光観察できるようにした ABCA1-GFP 分子) の挙動を1分子レベルで観察しまし

た。通常、一般的な膜タンパク質は細胞膜平面上を拡散によって動き回りますが、興味深いことに、アポリポタンパク質の非存在下では、ABCA1 分子の多く（約 70%）は一箇所に静止したままであるという特徴的な挙動を示しました（図 2）。したがって、ABCA1 には分子を細胞膜上で不動化している何らかの機構があることが予想されました。詳しく調べると、この静止している ABCA1 分子の約 90% は二量体（2 つの ABCA1 分子がまとまった状態）を形成していることが明らかになりました。

一方、HDL を産生する機能を持たない変異型 ABCA1 分子は二量体化せず、単量体の状態のままで細胞膜上を拡散していました（図 2）。したがって、コレステロールを動かす能力のある ABCA1 は、コレステロールの受け取り手であるアポリポタンパク質がやって来る前の段階では、二量体の形となって細胞膜上に静止していることがわかりました。

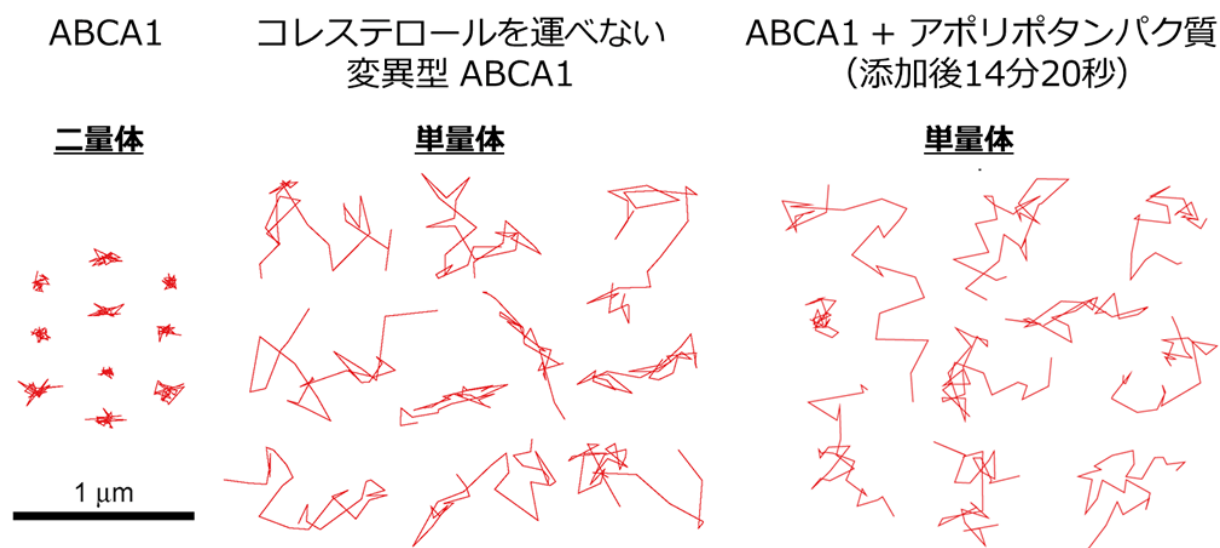


図 2：ABCA1 分子の細胞膜上での代表的な 1 秒間の軌跡

本研究グループは、ABCA1 は細胞膜中のコレステロールを動かして自身の分子内に溜め込み、二量体化して、コレステロールの受け取り手であるアポリポタンパク質の接近に備えてスタンバイしているものと考えています。

■ ABCA1 は細胞膜上で二量体を形成して静止し、アポリポタンパク質がやってくるのを待っている

体内では、コレステロールの受け取り手であるアポリポタンパク質が血中を流れています。そこで、細胞の外からアポリポタンパク質を添加する実験を続けて行いました。培養培地にアポリポタンパク質を添加すると、面白いことに、二量体となっていた ABCA1 が単量体に解離し、細胞膜上を拡散し始める様子が観察されました（図 2）。この結果より、ABCA1 からアポリポタンパク質へとコレステロールが受け渡された結果、善玉コレステロール HDL が形成され、一方、溜め込んでいたコレステロールを放出した ABCA1 は単量体に戻ってまたコレステロールを集めにかかるというサイクルがあることがわかりました。本研究によって、善玉コレステロール HDL の産生のためには、このような ABCA1 の二量体と単量体の相互変換が繰り返されていることが初めて明らかになりました（図 3, 4）。

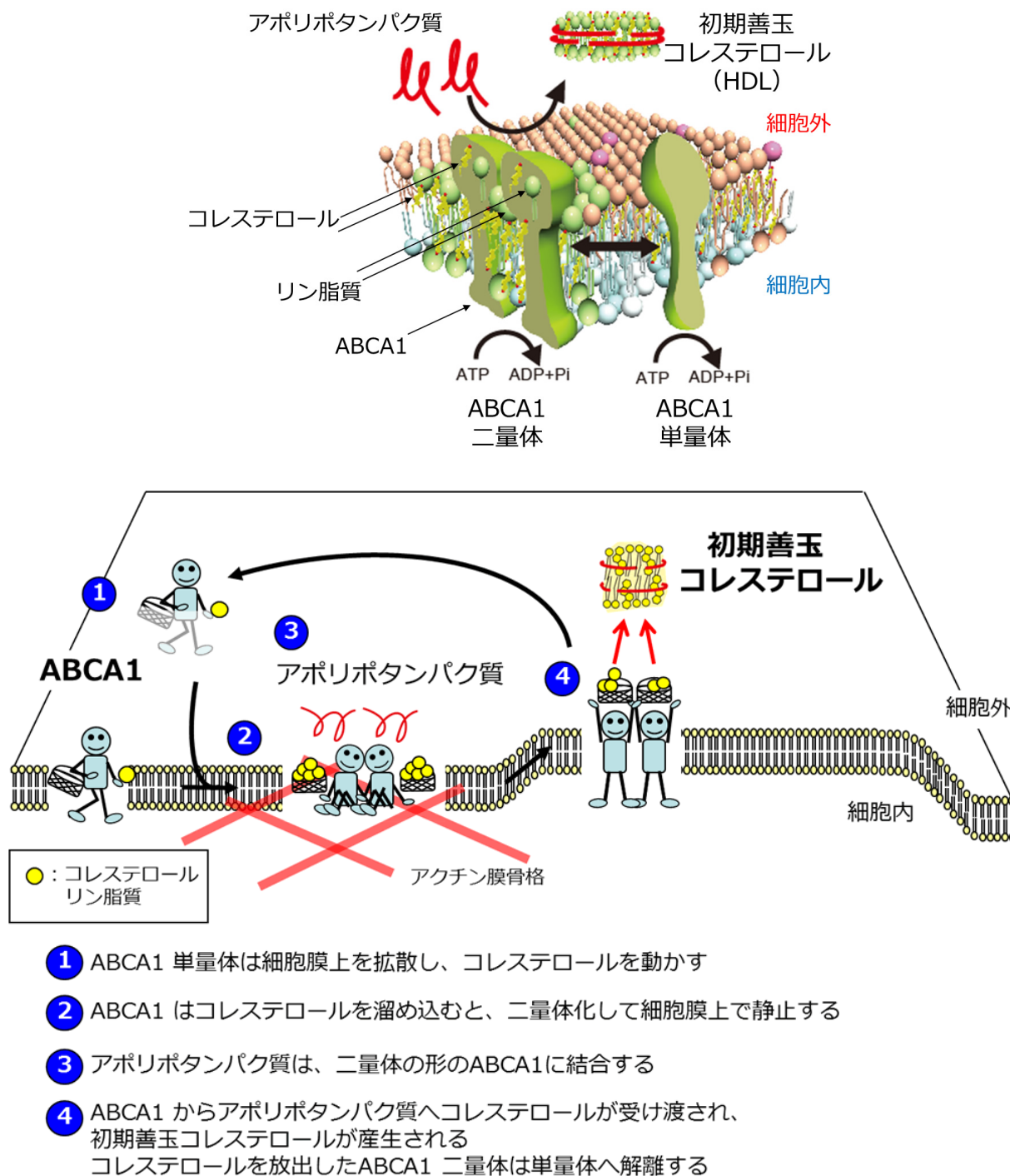


図3 (上), 4 (下) : ABCA1 による善玉コレステロール産生モデル

さらに、蛍光標識したアポリポタンパク質を培養培地に添加すると、アポリポタンパク質が二量体の状態の ABCA1 に結合する様子が観察されました。一方、アポリポタンパク質は HDL 産生機能をもたない変異型 ABCA1 には結合しませんでした。

- アポリポタンパク質は二量体の状態の ABCA1 に結合し、ABCA1 からコレステロールを受け取る
- 溜め込んでいたコレステロールを放出した ABCA1 は、二量体から単量体へと解離する

では、なぜ ABCA1 は、二量体の形となる必要があるのでしょうか？実は、ABCA1 によって産生される HDL は、2つのアポリポタンパク質分子が合わさってコレステロールやリン脂質を束ねた構造をとっています。そこで、アポリポタンパク質分子がバラバラに ABCA1 からコレステロールを受け取るよりも、2分子のアポリポタンパク質が一緒になってコレステロールを受け取り、HDL を産生するほうが効率的であると考えられます。本研究チームは、ABCA1 の二量体が、2分子のアポリポタンパク質を出会わせるためのプラットフォームとしての意味を持っているものと考えています。HDL 産生能をもたない変異型 ABCA1 が二量体を形成できないことから、ABCA1 の二量体化の生理学的な重要性がうかがえます。

■ ABCA1 の二量体化が HDL 産生に重要である

3. 今後の展開

今後はさらに、①ABCA1 のコレステロール結合部位を同定し、ABCA1 がどのようにしてコレステロールを溜め込むのか、②ABCA1 がどのようなメカニズムによって二量体化するのか、を明らかにすることで、ABCA1 による HDL 産生メカニズムをより詳細に解明することが課題となっています。

また、最近の研究によって、動脈硬化の予防のためには、HDL の量よりも HDL 産生能力の方が重要だということもわかってきています。今回、本研究グループは、HDL 産生の過程を可視化することに世界で初めて成功しました。今後、この過程を活性化する方法を見出すことで、動脈硬化症の予防や治療法の開発につなげることができると期待されます。

4. 用語解説

- ※1 **善玉コレステロール (HDL = high-density lipoprotein)** : コレステロールは肝臓で合成されるほか、食物として私たちは摂取している。コレステロールは小腸から吸収され、肝臓に運ばれた後、超低密度リポ蛋白質 (VLDL)、低密度リポ蛋白質 (LDL) として全身の細胞に運ばれる。全身の細胞で過剰になったコレステロールは善玉コレステロールとして知られる高密度リポ蛋白質 (HDL) として肝臓へ戻される (図1)。
- ※2 **ABCA1 (ATP-binding cassette protein A1)** : ABCタンパク質 (※6) の一種。2261アミノ酸からなる膜タンパク質。ABCタンパク質特有のATP結合ドメインを2つ持つ。さらに、アポリポタンパク質の結合部位である大きな細胞外ドメインを持つ。
- ※3 **アポリポタンパク質 (Apolipoprotein A-I)** : 肝臓から血中へ分泌される243アミノ酸からなるタンパク質で、2分子のアポリポタンパク質がコレステロールとリン脂質を取り囲むことによって善玉コレステロール (HDL) 複合体が形成される。
- ※4 **二量体 (dimer)** : 分子2個が結合して生成する2分子結合体のこと。3つ、4つの分子がまとまった場合はそれぞれ三量体、四量体と呼ぶ。
- ※5 **タンジール病** : 血中HDLが消失する遺伝病であり、米国の首都ワシントンDCが面するチェサピ

ーク湾に浮かぶ小島タンジール島で、はじめて見つかった。アメリカ国立衛生研究所のフレデリクソン医師が、1960年にタンジール島の少年を診察して発見した。しかし、その原因の遺伝子が同定されるには、40年近い時間が必要だった。1999年に、3つの研究グループがそれぞれタンジール病の原因がABCタンパク質のひとつABCA1遺伝子の異常であることを発見した。

- ※6 **ABCタンパク質**：約250アミノ酸にわたってよく保存されたアミノ酸配列からなるATP結合ドメイン（ATP Binding Cassette）を1機能分子あたり2つ持つタンパク質ファミリーである。ABCタンパク質の多くは、ATP加水分解に依存して物質を輸送するトランスポーターとして機能する。細菌からヒトまで地球上のほとんど全ての生物は、50種類前後のABCタンパク質遺伝子を染色体上にもっており、生物界全体の遺伝子ファミリーとしては最も大きなもののひとつである。ヒトでは48種類のABCタンパク質が重要な生理機能を果たしており、それらの異常はさまざまな疾病と関係している。たとえば、がんの多剤耐性、痛風、糖尿病、アルツハイマー病、嚢胞性繊維症、新生児呼吸窮迫症候群、黄斑部変性症、II型葉状魚鱗癬、動脈硬化症など。

5. 論文タイトル・著者

ABCA1 dimer–monomer interconversion during HDL generation revealed by single-molecule

imaging (参考訳：HDL産生におけるABCA1二量体–単量体相互変換の1分子イメージングによる解明)

Koh O. Nagata, Chieko Nakada, Rinshi S. Kasai, Akihiro Kusumi*, and Kazumitsu Ueda*

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)

DOI: 10.1073/pnas.1220703110

問い合わせ先

<研究内容について>

植田 和光（ウエダ カズミツ）

京都大学 物質–細胞統合システム拠点（iCeMS）教授／

京都大学 大学院農学研究科教授

Tel: 075-753-6124 | Fax: 075-753-6104 | Eメール: uedak<at>kais.kyoto-u.ac.jp

楠見 明弘（クスミ アキヒロ）

京都大学 物質–細胞統合システム拠点（iCeMS）教授／

京都大学 再生医科学研究所教授

Tel: 075-751-4112 | Fax: 075-751-4113 | Eメール: akusumi<at>frontier.kyoto-u.ac.jp

永田 紅（ナガタ コウ）

京都大学 物質–細胞統合システム拠点（iCeMS）特定拠点助教

Tel: 075-753-6106 | Fax: 075-753-6104 | Eメール: knagata<at>kais.kyoto-u.ac.jp

<京都大学 iCeMS について>

京都大学 iCeMS 国際広報セクション 飯島由多加（イイジマユタカ）、相山朋花（アイヤマトモカ）

Tel: 075-753-9755 | Eメール: pr<at>icems.kyoto-u.ac.jp