

蛋白質の立体構造形成を促進する因子の構造解析に成功
—ヒト細胞における蛋白質品質管理機構の仕組みの理解に一助、神経変性疾患・免疫不全・糖尿病などの疾病の成因解明に期待—

概 要

九州大学、大阪大学、Universita Vita-Salute San Raffaele Scientific Institute の研究グループ（代表：九州大学高等研究院（生体防御医学研究所 蛋白質化学分野）稲葉謙次 特別准教授）は、ヒト細胞の中で蛋白質ジスルフィド結合を創り出す酵素 **Ero1** の高分解能結晶構造解析に成功しました。これまで大腸菌や酵母などの蛋白質ジスルフィド結合形成因子の研究については進んでおりましたが、ヒトの同因子について分子構造と反応機構を解明したのは今回が世界で初めての例になります。

これにより、我々ヒトの細胞の中で蛋白質の立体構造が形成される仕組みの一端が解明され、細胞における蛋白質の品質が管理される仕組みが明らかになりました。これに加え、老化・動脈硬化・がんなどの要因となる活性酸素種（過酸化水素）を発生する **Ero1** が、実は活性酸素種を発生し過ぎないように自身の活性を巧妙に制御する仕組みがあることが分子構造レベルで解明されました。以上の成果により、今後は神経変性疾患、免疫不全、糖尿病などの疾病の成因解明が期待されます。

本研究成果は、2010年9月10日（米国東部時間）に欧州の科学雑誌 *EMBO Journal* (Nature Publishing Group 発刊) のオンライン版に掲載されます。

■背 景

細胞の中には、新しく合成された蛋白質の立体構造形成を促すための補助システムが存在します。一方で、正しい立体構造がとれなかった蛋白質（ミスフォールド蛋白質）を速やかに分解除去するためのシステムも存在します。これらシステムが破綻すると、細胞内にミスフォールドタンパク質が過剰に蓄積し、それらが毒となって様々な疾病を引き起こすことが知られています（図1）。

蛋白質の立体構造形成において、ジスルフィド結合は重要な役割を担っています。ジスルフィド結合は、空間的に近くに位置する二つのシステインと呼ばれるアミノ酸が酸化されることにより形成される硫黄原子間の共有結合です。この結合が補強金具のように機能することで、蛋白質の立体構造は頑強なものになります。ジスルフィド結合は細胞膜表層や細胞外に分泌される蛋白質に多くみられ、細胞の中で合成される全蛋白質の約10%がジスルフィド結合をもちます。ヒト細胞における遺伝子の数が2万数千と言われているので、ヒトが創り出す2千種類以上もの蛋白質がジスルフィド結合をもつと推定されます。ジスルフィド結合をもつ蛋白質として、免疫作用において中心的役割を担う免疫グロブリン（抗体）や、髪の毛や爪の主成分であるケラチン、さらにはインスリンや細胞成長因子などのホルモンが挙げられます。したがって、ジスルフィド結合をもつ蛋白質には、我々の日常生活や医学にも密接に関係するものが多く存在します。

■内 容

本研究では、ヒト細胞の小胞体¹⁾におけるジスルフィド結合形成において中心的役割を担う酸化酵素 **Ero1** の高分解能構造について、X線結晶構造解析という手法を用いて解析することに成功しました。**Ero1** は補酵素である **FAD**²⁾ および酸素分子と共役してジスルフィド結合を創りだし、そこで創られたジスルフィド結合は **PDI (Protein Disulfide Isomerase)** という因子に受け渡され、最終的に下流の多くの蛋白質にジスルフィド結合が導入されます（図2）。

今回の研究により、**Ero1** の全体構造および **FAD** と酸素分子と共役してジスルフィド結合を創り

だす反応機構の詳細が明らかとなりました(図3)。また Ero1 が PDI にジスルフィド結合を選択的に受け渡す仕組みについても、理解が進みました。さらにもう一つ重要な発見として、Ero1 はジスルフィド結合を創り出す過程において老化・動脈硬化・がんなどの要因となる活性酸素種(過酸化水素)を発生しますが(図2)、Ero1 が活性酸素種を発生し過ぎないように自身の活性を巧妙に制御する仕組みについても分子構造レベルで解明しました。

以上の研究により、我々高等生物の細胞の中で蛋白質の立体構造形成が促進される仕組みの一端が解明されました。さらに、細胞中の酸化還元環境を感知しながら Ero1 自身の活性を制御することで、細胞の中で活性酸素種が発生し過ぎないように制御する仕組みについても大きく理解が進みました。

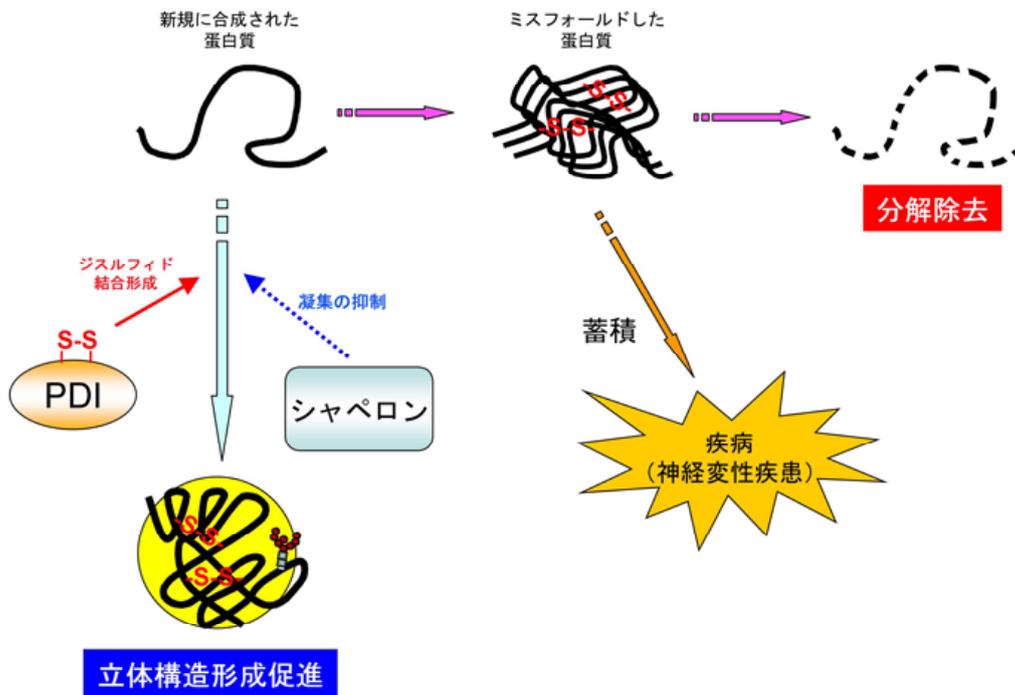


図 1 : 細胞における蛋白質品質管理の仕組み

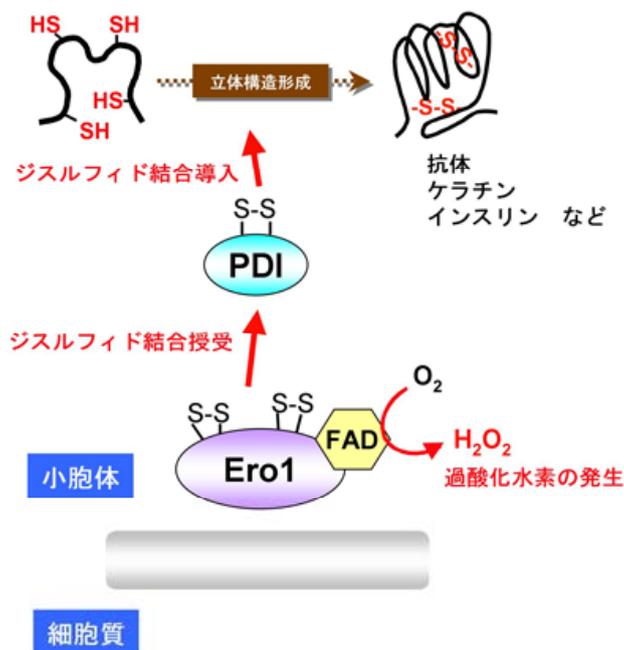


図 2 : ヒト細胞におけるジスルフィド結合形成システム

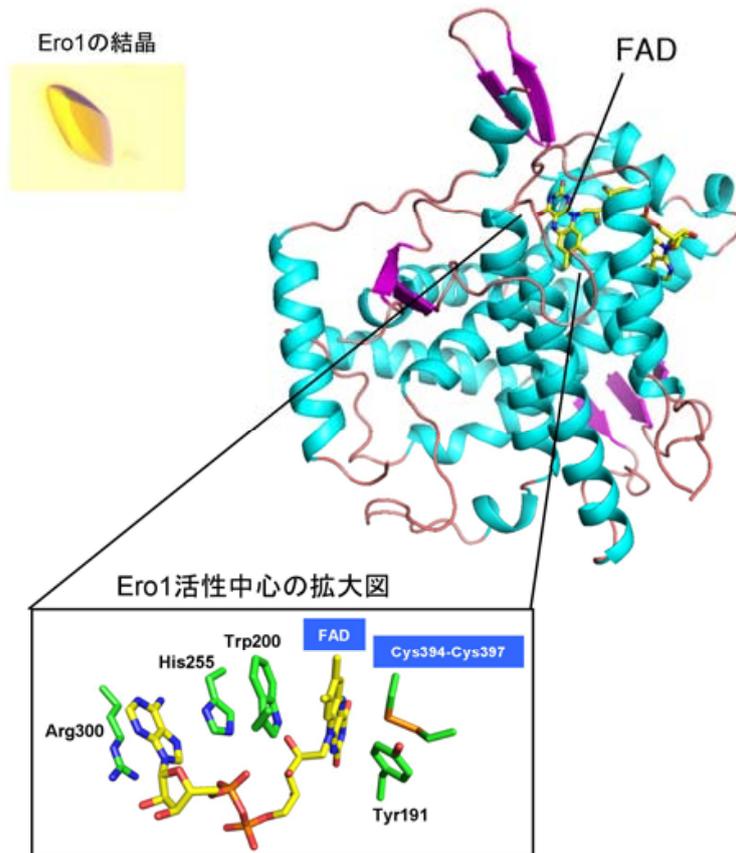


図 3 : ヒト由来ジスルフィド結合形成酸化酵素 Ero1 の結晶構造

■効果、今後の展開

我々は 2006 年、2009 年にも大腸菌において蛋白質ジスルフィド結合の形成に関わる因子 (DsbB-DsbA) の構造解析に成功しており (Inaba et al., *Cell*, 2006; Inaba et al., *EMBO J*, 2009)、今回解かれた Ero1 の構造と比較照合することにより、これら酵素に共通する構造および反応機構が明らかとなりました。すなわち、高等生物細胞、バクテリアを問わず蛋白質ジスルフィド結合の形成に関わる細胞システムの普遍的な作用機序が明らかとなったと言えます。これら知見は、細胞における蛋白質の立体構造形成および品質管理の仕組みを理解する上で、非常に役立つものです。

細胞の中で蛋白質の立体構造形成がうまくいかない場合、ミスフォールドした蛋白質が過剰に蓄積し、様々な疾病を引き起こすことが知られています。実際、本研究の対象である PDI-Ero1 システムが機能不全に陥れば、パーキンソン病やアルツハイマー病など種々の神経変性疾患を引き起こすことが知られております。また、PDI-Ero1 システムに依存して成熟化する蛋白質として、抗体や抗原提示分子さらにはインスリンなどが存在することから、本研究で得られた知見は免疫不全や糖尿病などの疾病の成因解明にもつながり得るものです。

現在ヒト細胞の中には、蛋白質ジスルフィド結合の形成に関わる PDI ファミリーの因子が 20 種類近く同定されておりますが、その多くの因子の具体的な機能は依然未解明です。今後、蛋白質ジスルフィド結合の形成に関わる他の因子についても機能及び機能発現メカニズムが解明されれば、細胞における蛋白質品質管理機構に関する理解がさらに深まることが期待されます。

【掲載論文名】

Crystal structures of human Ero1 α reveal the mechanisms of regulated and targeted oxidation of PDI
(ヒト由来 Ero1 の結晶構造により明らかとなった PDI 酸化における制御の機構)

【用語解説】

- 1) 小胞体：真核細胞の小区画の一つ。ここで分泌蛋白質や膜蛋白質は合成される。ジスルフィド結合の形成や糖鎖の付加が起こる主要な場である。
- 2) FAD：flavin adenine dinucleotide（フラビンアデニンジヌクレオチド）の略。細胞の中で電子の授受に関わる補酵素で、ビタミンBの一種。

【お問い合わせ】

九州大学高等研究院（生体防御医学研究所 蛋白質化学分野）特別准教授

稲葉 謙次（いなば けんじ）

電話：092-642-6433

FAX：092-642-6433

Mail：inaba-k@bioreg.kyushu-u.ac.jp