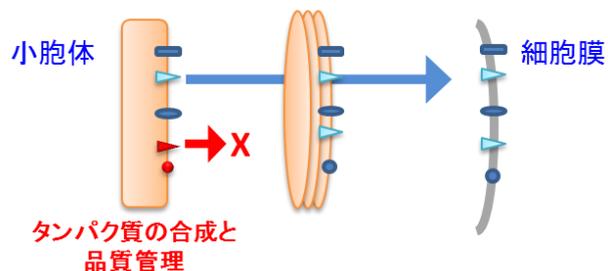


平成 26 年 8 月 5 日

遺伝病の原因となる膜タンパク質が 細胞内に蓄積してしまう原因の一端を解明

ヒトの体は約 60 兆個の細胞からできています。これらの細胞の表面（細胞膜）や細胞内の膜構造にはたくさんの膜タンパク質が存在し、生命の維持に重要な役割を果たしています。このようなタンパク質のほぼすべては細胞の中にある小胞体という場所で合成され、正しくできているか厳しいチェックを受けた（品質管理）後に細胞表面や各膜構造へと運ばれていきます（下図）。しかしながら、ある種の遺伝病では遺伝子変異によって細胞表面や各膜構造で働くべきタンパク質の形が変化してしまい、品質管理システムによって小胞体から出られなくなってしまう（下図、▲）。これらの変異タンパク質の多くはまだ働く能力を持っているのですが、働き場に行くことができないため、能力を発揮することができません。また、このようなタンパク質が小胞体に過剰に蓄積してしまうと、細胞機能が障害され細胞が死んでしまう（細胞死）ケースもあります。その結果、神経、腎臓、心臓病などのさまざまな遺伝病の原因となることが知られています。しかしながら、なぜこのような疾患の原因となる膜タンパク質（疾患原因膜タンパク質）が小胞体に蓄積してしまうのかについては長らく謎でした。



今回、国立大学法人群馬大学(高田邦昭学長)・生体調節研究所(岡島史和所長)・細胞構造分野の佐藤健教授の研究グループは、このような疾患原因膜タンパク質の小胞体蓄積にはたらく新たな遺伝子を発見しました。

本研究では網膜色素変性症の原因タンパク質の 1 つである変異ロドプシンの小胞体蓄積メカニズムについて解析を行いました。その結果、Rer1 というタンパク質がある種のロドプシン変異タンパク質に結合し、小胞体に残留させていることが明らかとなりました。この Rer1 遺伝子の機能を低下させると変異型ロドプシンが小胞体以降に輸送されるようになり、小胞体における蓄積が緩和されるようになります。

このような小胞体においてタンパク質が蓄積することが原因の疾患は多数存在するので、本研究内容は網膜色素変性症だけではなくその他の類似疾患の原因を解明する糸口になると期待されます。

本研究結果は、英国オンライン科学誌 Scientific Reports 電子版に(英国時間の8月6日午前10時(英国時間)付)で掲載予定です。

Rer1p regulates the ER retention of immature rhodopsin and
modulates its intracellular trafficking

Akinori Yamasaki (山崎章徳), Taichi Hara (原太一), Ikuko Maejima (前島郁子),
Miyuki Sato (佐藤美由紀), Katsuya Sato (佐藤克哉), and
Ken Sato (佐藤健, 責任著者)

(群馬大学 生体調節研究所 細胞構造分野)

背景

細胞膜タンパク質や細胞内の膜構造を構成する膜タンパク質の多くは、まず小胞体(タンパク質生産工場のような場所)で合成後、ゴルジ体(タンパク質加工工場のような場所)を経て、目的地である細胞膜(細胞表面)や各膜構造へと輸送されます(図1)。小胞体では新しく合成されたタンパク質に糖を付加したり、正しく折りたたむ等した後、厳しい品質管理が行われ、正常なタンパク質のみを小胞体からそれ以降の目的地へと輸送しています(図1左)。しかしながら、この品質管理機構が逆に疾患を引き起こすケースが知られています(図1右)。例えば遺伝性の腎性尿崩症などでは、本来、細胞膜に存在し尿濃縮に働く膜タンパク質に変異が生じた結果、タンパク質活性を保持しているにも関わらず小胞体品質管理機構によってトラップされてしまい、重篤な疾患を引き起こすことが知られています。一方、網膜色素変性症では、ロドプシンなどの変異膜タンパク質が小胞体に過剰に蓄積した結果、細胞傷害性を呈するケースも知られています。このように変異膜タンパク質が小胞体に蓄積してしまうことが原因の疾患は多数報告されていますが、変異が生じた膜タンパク質がなぜ小胞体に蓄積してしまうのか、そのメカニズムはほとんど明らかとなっていないままでした(図2)。

2. 研究手法と成果

私達はこのような疾患のうち網膜色素変性症に着目し、研究を行いました。網膜色素変性症は進行性夜盲、視野狭窄などの症状を呈する遺伝病の1つで4000人に1人の割合で発症することが報告されている遺伝子疾患です(図3)。この疾患の原因遺伝子の1つであるロドプシンは光受容器細胞(R細胞)において光を感受するセンサー膜タンパク質であり、小胞体で合成後、Outer Segment という細胞内の膜構造へと輸送されます。しかしながら、遺伝子変異によりアミノ酸置換が生じると小胞体に蓄積し、その機能を果

たすことができなくなります。また、ある種の優性変異の場合は小胞体に過剰に蓄積することにより、光受容器細胞の細胞死を引き起こすことが知られています。これらの結果として視野狭窄や、重篤な場合、視覚の喪失に至るケースも知られています。

そこで、この小胞体蓄積のメカニズムを簡便に解析するために、正常なロドプシン（野生型という）と3種の優性変異ロドプシン [P23H (23番目のプロリンがヒスチジンに置換)、G51R (51番目のグリシンがアルギニンに置換)、L40R (40番目のロイシンがアルギニンに置換)] に緑色蛍光タンパク質 (GFP) を融合し、HeLa細胞における局在性を解析しました (図4)。その結果、野生型ロドプシンは速やかに小胞体から細胞膜まで輸送されるのに対し、各変異ロドプシンは小胞体に蓄積していました (図6左、後述)。この小胞体蓄積のメカニズムを解析するために、私達が酵母研究によって発見した Rer1 というゴルジ体のタンパク質に着目しました (図5)。私達は出芽酵母においてこのタンパク質が小胞体から輸送されてきた小胞体のタンパク質や変異タンパク質をゴルジ体から小胞体に送り返すことによって局在化させる選別装置として働くことを明らかにしてきました (佐藤ら, 1995, 1996, 1997, 2001, 2003, 2004)。そこで、この Rer1 のヒト遺伝子を遺伝子ノックダウン法により発現低下させたところ、小胞体に蓄積していたロドプシンの G51R 変異体が細胞膜やリソソームへと輸送されるようになることが明らかとなりました (図6)。また、Rer1 タンパク質がこの変異ロドプシンと相互作用することが判明しました。以上のことから、Rer1 はゴルジ体においてロドプシン G51R 変異体のような疾患原因膜タンパク質に相互作用し、小胞体に送り返すことによって小胞体に蓄積させることが判明しました (図7)。

3. 今後の展望

図2に示すように遺伝子変異によって小胞体にタンパク質が蓄積してしまう疾患は数多く存在します。しかしながら、これらの変異タンパク質が小胞体に蓄積する仕組みは依然としてほとんどわかっていません。現在、他の類似疾患についてもすでに解析を開始しており、変異タンパク質の小胞体蓄積における Rer1 の関与が明らかとなりつつあります。このことから、本研究によって同定された Rer1 は網膜色素変性症のみならず変異膜タンパク質が小胞体に蓄積する類似の疾患の原因を解明する糸口になる可能性があります。今後、変異タンパク質の構造を修正し Rer1 により認識されなくしたり、Rer1 の機能を低下させる薬剤等の発見により、網膜色素変性症だけではなくその他の類似疾患にも適用可能な薬剤の開発に活用できるのではないかと期待しています (図8)。

本研究は内閣府 最先端・次世代研究開発支援プログラム (NEXT) のご支援による研究
です。

連絡先

群馬大学生体調節研究所 細胞構造分野

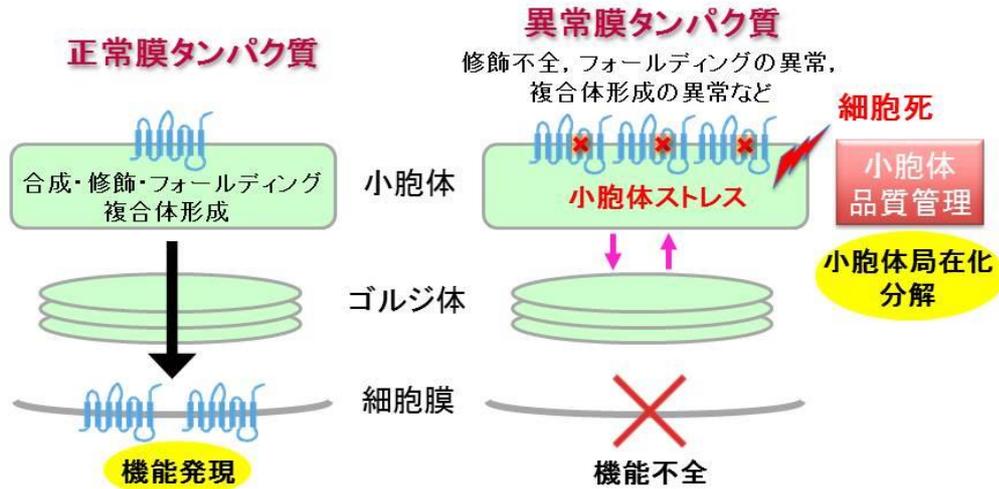
佐藤健

電話： 027-220-8843, 8840 FAX: 027-220-8844 E-mail: sato-ken@gunma-u. ac. jp

図1

小胞体における品質管理機構

異常タンパク質を選別し、小胞体以降への輸送をブロックする
生体防御システム



変異タンパク質がその活性を保持しているにも関わらず、小胞体品質管理機構に
トラップされてしまい、重篤な疾患が引き起こされるケースがある。

図2

変異膜タンパク質の小胞体蓄積によって生じる疾患の例

遺伝子	機能	症状	膜貫通領域における変異	参考文献
AQP2	水チャネル	腎性尿崩症	G175Rなど	Kuwahara et al, 1998
SUR1	サルフォネルウレア受容体	高インスリン血症	V187Dなど	Yan et al., 2004
HERG	カリウムチャンネル	不整脈, 突然死	Y611Hなど	Zhou et al., 1998
SCN5A	ナトリウムチャンネル	不整脈, 突然死	G1740Rなど	Baroudi et al, 2004
PMP22	ミエリンタンパク質	筋委縮, 末梢神経障害	G150Dなど	Nael and Suter, 1999
V2R	V2 バソプレシン受容体 (Gタンパク質共役受容体)	腎性尿崩症	V206Dなど	Robben et al., 2005
ロドプシン	光受容器細胞色素 (Gタンパク質共役受容体)	網膜色素変性症	L40Rなど	Mendes al., 2005

異常膜タンパク質の小胞体局在化の分子メカニズムは
ほとんど解明されていない

図3 網膜色素変性症

病態: 進行性夜盲, 視野狭窄, 羞明 頻度: 4000人に一人(国内約5万人と言われている)
ロドプシンを始めとして複数の原因遺伝子が存在する。

ロドプシン

opsin 遺伝子にコードされるGタンパク質共役受容体と11-*cis*-retinalからなる色素。
光受容器細胞(R)の小胞体で合成され, outer segment(OS)のDiskに輸送されて働く。

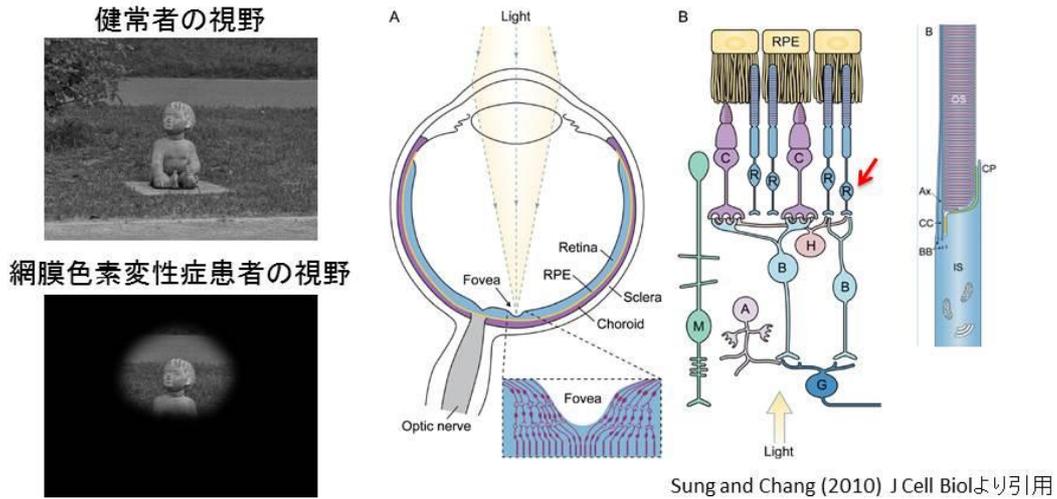
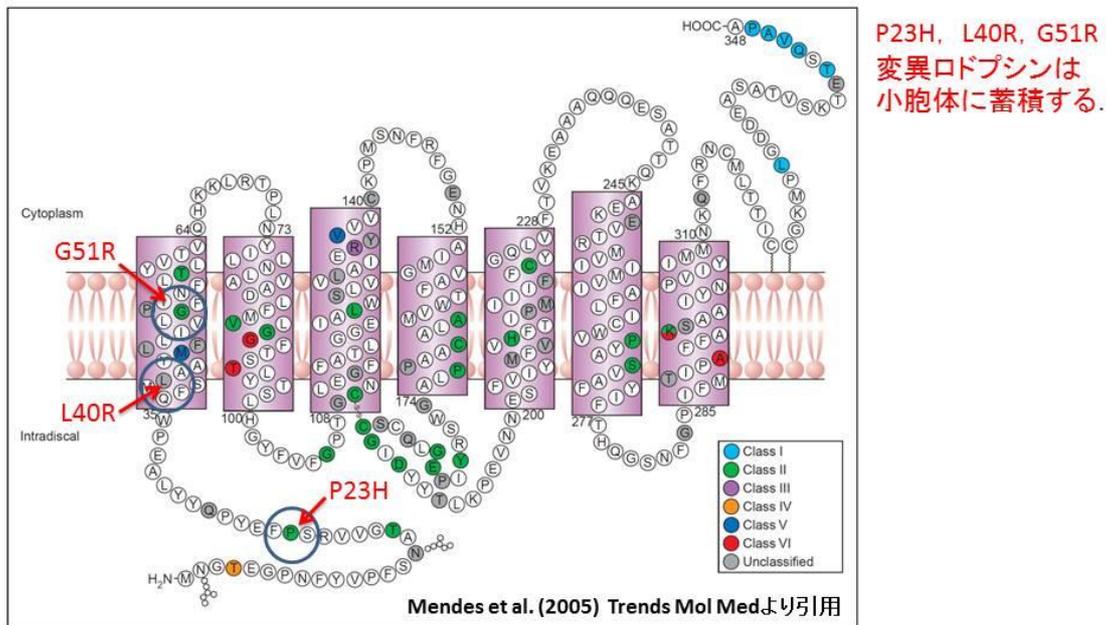


図4 ロドプシンのアミノ酸配列と構造



120か所以上の変異が報告されており, 特に膜貫通領域における疎水性アミノ酸から親水性アミノ酸への置換が多い。また, これらの変異の多くで小胞体にトラップされる輸送障害が報告されている。

図5. Rer1p は膜タンパク質の小胞体局在化を制御する

Rer1p

- ✓ 酵母において小胞体膜タンパク質の局在化に必要な新規因子として発見 (Sato, et al., 1995, 1996, 2001)
- ✓ 酵母からヒトにまで高度に保存された膜タンパク質
- ✓ 膜タンパク質の品質管理においても標的タンパク質の認識と小胞体局在化を制御する (Sato, et al., 2003, 2004)
 - 膜貫通領域に変異をもつ異常タンパク質
 - 複合体形成していない膜タンパク質 (鉄輸送複合体, γ セクレターゼ複合体など)

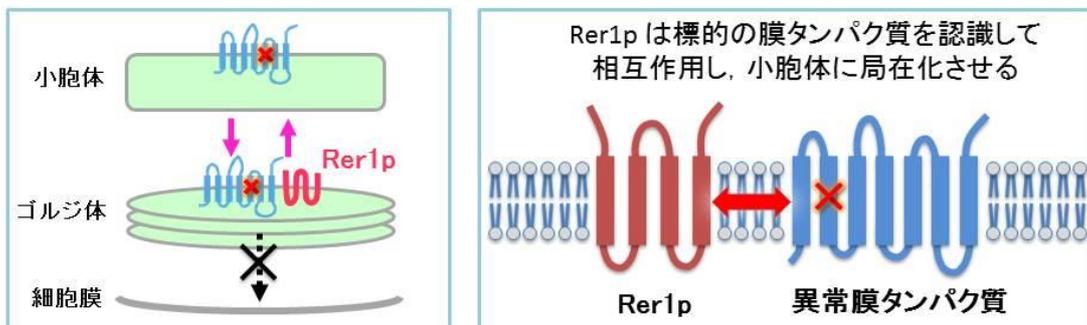


図6. Rer1遺伝子の働きを低下させるとG51R変異体が小胞体から細胞膜へと輸送されるようになる。

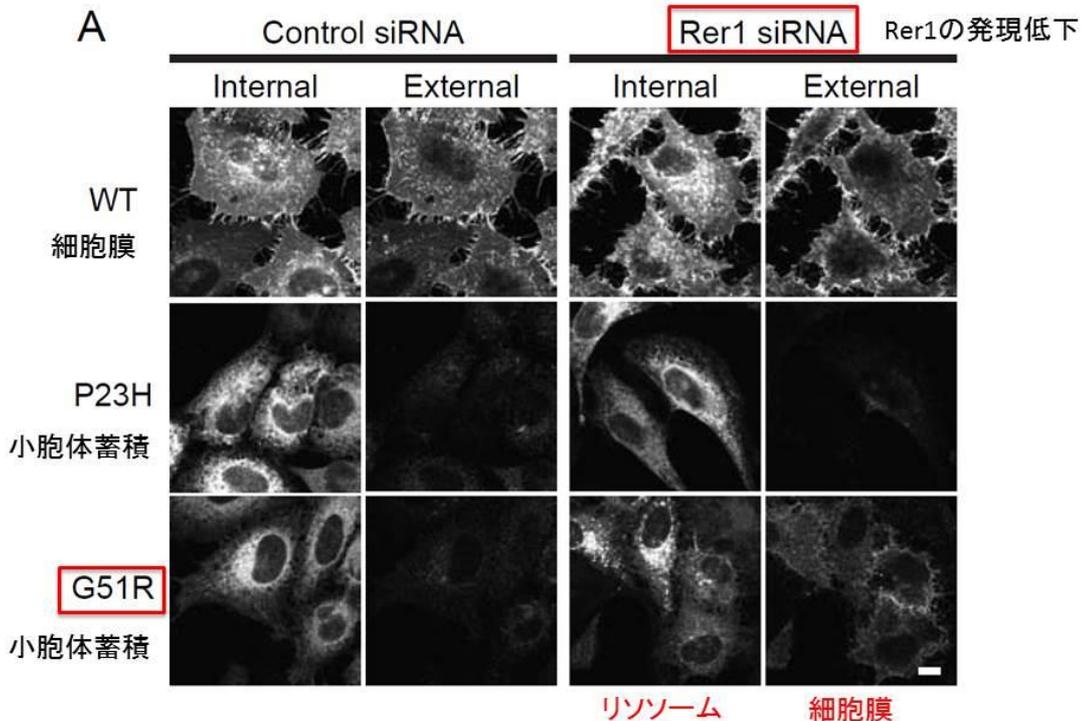


図7 ***rer1* 遺伝子機能を低下させると
ロドプシンG51R変異体の小胞体蓄積が緩和される可能性**

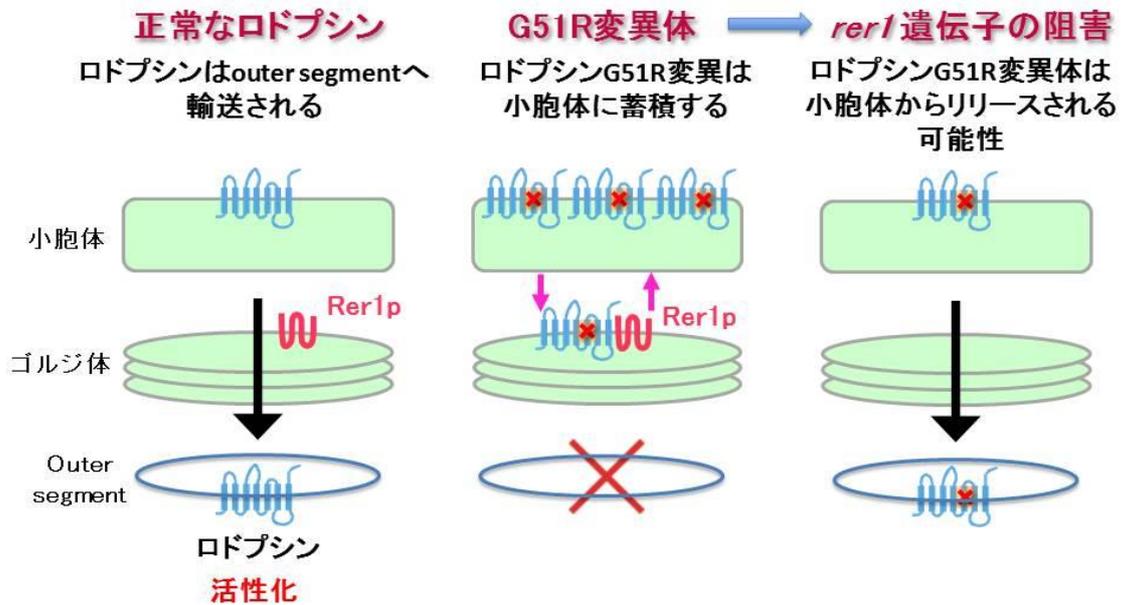


図8 **小胞体局在化を解除することにより
部分的な機能発現の回復や細胞障害性の低減が期待できる**

