

ABCA1によるコレステロール輸送の生理的役割の解明

小笠原 史彦

ATP binding cassette A1 (ABCA1)は、高密度リポタンパク質(HDL)産生に必須なタンパク質である。このことは、1999年に発表された血中HDL量が著しく減少するタンジール病の解析に端を発して、ABCA1ノックアウトマウスを用いた実験や培養細胞を用いた実験が多数行われたことによって確かなものとなった。現在でもABCA1に関する研究は年間200報以上報告され続けているが、その多くはABCA1がHDLを産生すること、また余剰なコレステロールを排出することを前提とした研究であり、ABCA1の輸送体としての機能に関する研究は少ない。しかし、最近ABCA1は細胞の増殖や炎症などの基本的な機能に影響を及ぼすことが報告されており、HDL産生だけではないABCA1の機能に対する関心が高まっている。そこで本研究では、ABCA1のコレステロール輸送活性に着目して培養細胞を用いた解析を行い、ABCA1が細胞内のコレステロール量の調節に重要な役割を果たすことを見出した。以下に本研究で明らかになったことを各章ごとに要約する。

第一章では、ABCA1によるHDL産生速度とコレステロール輸送活性の関係を解析した。一般に酵素の反応速度は基質濃度の増加に伴って上昇する。ABCタンパク質においても同様であり、基質輸送速度は基質濃度依存的に上昇する。しかし、技術的な問題から、これまでABCA1が直接コレステロールを直接輸送するかどうかはわかっていなかった。ABCA1によるHDL産生機構に関しては議論が分かれており、著者らはABCA1がホスファチジルコリン(PC)とコレステロールを輸送して直接HDLを産生するモデルを提唱している。そこで、このモデルから、ABCA1がコレステロール輸送活性をもつならば細胞膜コレステロール濃度の上昇に伴ってHDL産生速度が増加するという仮説を立て、これを検証した。メチル- β -シクロデキストリン(M β CD)またはM β CD-コレステロールを用いて細胞膜コレステロール濃度を直接変化させ、短時間でABCA1によるapoA-I依存的な脂質排出を測定することによって、細胞膜コレステロール濃度依存的なABCA1による脂質排出の初速の変化を評価した。その結果、細胞膜コレステロール濃度の上昇に伴ってコレステロールだけではなくPCの排出速度も大きく増加することがわかった。このことから、ABCA1によるHDL産生速度が細胞膜コレステロール濃度の上昇に伴って増加することが明らかになった。このことは、ABCA1がコレステロール輸送活性をもっており、HDL産生においてコレステロールを直接輸送していることを示唆している。

細胞膜においてリン脂質は脂質二重膜内層と外層に非対称的に分布しており、その非対称性が生理的に重要であることが知られている。最近、コレステロールについても細胞膜において非対称的に存在しており、細胞膜外層のコレステロール濃度は内層の約十倍高いこ

とが報告された。その報告の中で、ABCA1 は細胞膜においてコレステロールを内層から外層へフロップしており、細胞膜コレステロール非対称性を維持していることが示された。しかし、他のグループによってコレステロールは細胞膜内層に多いという結果が報告され、議論が分かれている。そこで第二章では、細胞膜コレステロール非対称性について、コレステロール依存性細菌毒素ストレプトリシン O(SLO)を用いて解析した。著者は、ABCA1 発現細胞では SLO によって細胞膜に孔が開かないことを発見し、その機構を解析した。その結果、ABCA1 による SLO 孔形成の抑制は ATPase 活性依存的事であること、また ABCA1 の発現によって膜面分のコレステロール量に変化はなく、SLO の結合量にも変化がないことがわかった。これらのことから、SLO は細胞膜内層のコレステロールに依存して孔を開けていることが考えられた。実際、ABCA1 発現細胞では細胞膜外層のコレステロールが増加しており、細胞膜のスフィンゴリエリンを分解することによって細胞膜内層のコレステロールを増加させると SLO 孔形成が促進されることがわかった。これらの結果から、ABCA1 は細胞膜において内層から外層へコレステロールをフロップしており、細胞膜内層のコレステロールを減少させていることが明らかになった。

第三章では、ABCA1 が細胞膜内層のコレステロール濃度を低下させることの生理的意義について解析した。細胞においてコレステロールの多くは細胞膜に存在しているが、コレステロール量の調節に関わる多くのタンパク質は小胞体に存在しており、細胞膜のコレステロール濃度がどのように小胞体に伝えられているかは長らく謎であった。細胞内のコレステロールは、膜と膜が近接する領域（膜コンタクトサイト）に局在する脂質輸送体によって輸送されていると考えられている。このことから、細胞膜-小胞体コンタクトサイトにおいて細胞膜コレステロール濃度を小胞体に伝える機構が存在すると予想されるが、細胞膜コレステロール濃度は小胞体コレステロール濃度より 5 倍から 10 倍高く、どのようにしてこの濃度勾配を維持しているのかは全くわかっていなかった。そこで著者は、ABCA1 が細胞膜内層のコレステロール濃度を低下させ、細胞膜-小胞体コンタクトサイトにおけるコレステロールの濃度勾配を調節することによって、細胞膜から小胞体へのコレステロール輸送を調節しているという仮説を立て、これを検証した。その結果、ABCA1 発現細胞では、細胞膜コレステロール濃度の増加に伴った小胞体へのコレステロール輸送が抑制されることを示唆する結果が得られた。また、細胞膜のスフィンゴリエリンを分解し、細胞膜内層のコレステロールを増加させると小胞体へのコレステロール輸送が促進されることも示唆された。

以上の結果は、ABCA1 は HDL 産生とコレステロールフロップという二つの活性を発揮することによって、細胞膜内層のコレステロールを低く維持し、細胞内のコレステロール量を絶妙に調節しているという全く新しい概念を示唆している。この新たな概念は、細胞内コレステロール輸送に関わる多くの謎を解く鍵となると考えられる。