



コレステロール合成経路の新たな制御ポイント： スクアレンモノオキシゲナーゼが基質により安定化されるメカニズムを解明

発表者：

吉岡 広大 (東京大学大学院薬学系研究科 博士課程 3年 / 日本学術振興会特別研究員 DC2)

Hudson W. Coates (University of New South Wales, PhD Candidate)

Ngee Kiat Chua (University of New South Wales, PhD Candidate)

橋本 祐一 (東京大学定量生命科学研究所 生体有機化学研究分野 教授)

Andrew J. Brown (University of New South Wales, School of Biotechnology and
Biomolecular Sciences, Professor)

大金 賢司 (東京大学定量生命科学研究所 生体有機化学研究分野 助教)

発表のポイント：

- ◆コレステロール合成経路上のスクアレンモノオキシゲナーゼ (SM)が、自身が基質とするスクアレンの量を検知してそれに応じて自身の安定性を増すという、コレステロール合成経路の恒常性維持に寄与する新しい機構を発見しました。
- ◆スクアレンが SM の非触媒ドメインにも結合して、その安定性を正に制御していることを見出しました。このような基質が自身を代謝する酵素をアロステリックに安定化する例は、ほとんど報告がありません。
- ◆SM はコレステロール合成に必須であることから、その活性・存在量の制御は、動脈硬化などコレステロールが憎悪因子となる疾患の治療薬開発に貢献できる可能性があります。また近年、SM とがんの関連が示唆されていることから、がん研究の進展にも貢献する可能性があります。

発表概要：

コレステロールは高等生物にとって必須の脂質です。しかしながら、コレステロールの生合成には多量のエネルギーが必要であり、また過剰のコレステロールは動脈硬化等の疾患の憎悪因子であるため、その生合成量は厳密に制御されています。よく知られた例としては、コレステロールが自身の合成等に必要なタンパク質群の転写を抑制することが知られています。このような、必要なタンパク質群を「作る速さ」を調節する仕組みは、分子レベルで機序が明らかとなっています。一方、「壊す速さ」を調節する仕組みがあることも近年わかってきていますが、その機序には謎が多く残っています。

今回、東京大学定量生命科学研究所／大学院薬学系研究科の吉岡広大 大学院生、大金賢司 助教、橋本祐一 教授ら、および、オーストラリアのニューサウスウェールズ大学の Andrew J. Brown 教授らの研究チームは、コレステロール合成経路の律速酵素(注 1)の一つであるスクアレンモノオキシゲナーゼ (SM) がその基質(注 2)であるスクアレン(注 3)を感知して SM 自身を安定化するという、分解速度の調節を介したコレステロール恒常性維持機構を新たに見出しました。詳細な解析の結果、スクアレンは SM の N 末端制御領域に結合することで感知され、タンパク質の分解を担う E3 ユビキチンリガーゼ(注 4)との相互作用が減少し、分解が遅くなることを明らかにしました。この SM の安定化には、基質の蓄積を感知して、それを素早く代謝する意義があると考えられます。また本研究成果は、酵素活性の阻害とは全く異なる、新しい機序のコレステロール恒常性調節薬の開発に役立つことが期待されます。

発表内容：

コレステロールは、高等生物において生体膜の主要な構成成分であるとともに、ステロイドホルモン等の前駆体として必須な脂質です。コレステロールは、細胞内においてアセチル CoA を出発原料として、おおよそ 30 段階の酵素反応からなる生合成経路により、多くの ATP や酸素を消費して合成されています (図 1)。この必要性と生合成の高いコストゆえに、生命はコレステロールの恒常性を維持するために、何重もの制御機構を用いて、その合成量や細胞外からの取り込み量を調節しています。このような制御機構の例として、コレステロールやその代謝産物であるオキシステロールが、コレステロール合成酵素群や取り込みに必要な受容体の転写を抑制する、という機構が知られています。これはコレステロール合成(や取り込み)に必要なタンパク質を「作る速さ」を調節するもので、これまでの多くの研究から分子レベルでの機構の理解が進んでいます。一方で近年、ステロールが一部のコレステロール合成酵素の「壊れる速さ(分解速度)」を変化させる機構も存在し、転写を介した制御と協働して、コレステロール恒常性の維持を担っていることがわかってきています。このような「壊れる速さ」の制御機構については、ステロールなどの低分子化合物がどのように分解速度を変化させるのか、ステロール以外の分子でも同様の現象が起きるのか、このような応答性を示すタンパク質は他にもあるのかなど、まだわからないことが多いのが現状です。

コレステロール生合成経路上に存在するスクアレンモノオキシゲナーゼ (SM) は、炭素と水素のみからなる生合成中間体スクアレンを基質としてそのエポキシ化を触媒する酵素であり、コレステロールに存在する唯一の酸素原子を導入しています (図 1)。2011 年、SM がコレステロールの量に応じて転写レベルでの調節を受けるだけでなく、コレステロール依存的に分解するという「壊れる速さ」の制御も受けていることが明らかとなりました。コレステロール合成経路の律速酵素として知られる HMG-CoA 還元酵素(注 5)が、コレステロール合成阻害剤スタチン(注 6)の標的として有名ですが、第二の律速段階としてその重要性が認識されています。これまでコレステロール依存性分解の解析は、生化学的アプローチと遺伝学的アプローチにより行われてきましたが、分子レベルでの機序には依然として謎が残り、SM の「壊れる速さ」を制御する機構の完全な理解には至っていませんでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所/大学院薬学系研究科の吉岡広大 大学院生、大金賢司 助教、橋本祐一 教授、およびオーストラリアのニューサウスウェールズ大学の Andrew J. Brown 教授らの研究グループは、SM の「壊れる速さ」を調節する機構の解析に、化学的アプローチを取り入れることで、SM の基質であるスクアレンの量を SM が感知して SM 自身を壊れにくくする、という、「壊れる速さ」の調節に基づく新しい制御機構の存在を発見しました (図 1)。これまでは SM の分解に関与するタンパク質や遺伝子の探索が行われて来たのに対し、SM の分解速度に影響を与える低分子化合物の探索を行い、その化合物の作用機序の解析から上記の制御機構を見出しました。

SM はスクアレンを基質とすることから、エポキシ化反応を触媒するドメイン (触媒ドメイン) にスクアレンが結合することは既に知られていました。今回の発見では、スクアレンが SM の触媒ドメインだけでなく、N 末端制御領域にも直接結合することを見出し、光親和性標識法 (注 7)を用いることでそれを証明しました。そして、このスクアレンと N 末端制御領域の結合により、MARCH6 と呼ばれる、分解すべきタンパク質に目印をつける E3 ユビキチンリガーゼとの相互作用が減少し、分解速度が低下することを明らかとしました。このようなスクアレンが自身を代謝する酵素を増やすという現象は、スクアレンが溜まってしまった場合に、SM

の量を増やすことで代謝能力を高め、コレステロール合成経路の流れの恒常性を保つのに寄与しているものと考えられます。

真菌が持つ SM の触媒ドメインを標的とした阻害剤(注 8)は、既に抗真菌薬として臨床で使われています。一方で、ヒトの SM 阻害剤は承認に至った化合物はありません。医薬という観点では、本研究により SM の N 末端制御領域が低分子化合物で「狙える」可能性が見えてきました。近年 SM とがんの関連が提唱されていることから、将来的には、本研究で得られた知見は脂質異常症のみならずがんに対する新しい治療薬の開発に貢献することが期待されます。

発表雑誌：

雑誌名：*Proceedings of National Academy of Sciences, U.S.A.*

論文タイトル：A key mammalian cholesterol synthesis enzyme, Squalene Monooxygenase, is allosterically stabilized by its substrate

著者：Hiromasa Yoshioka, Hudson W. Coates, Ngee Kiat Chua, Yuichi Hashimoto, Andrew J. Brown*, Kenji Ohgane* (*責任著者)

問い合わせ先：

東京大学 定量生命科学研究所 生体有機化学研究分野
助教 大金 賢司 (おおがね けんじ)

用語解説：

注 1 「律速酵素」(rate-limiting enzymes)

多段階の酵素反応からなる生合成経路において、全体の生合成速度に大きく寄与する酵素。道と交通量に例えると、律速酵素は細い一本道に相当し、そこを通る交通量が経路全体の交通量を決める。

注 2 「基質」(substrate)

酵素による修飾・変換を受ける化合物。スクアレンモノオキシゲナーゼの場合は、スクアレンが基質としてエポキシ化されることで、生成物のオキシドスクアレンへと変換される。

注 3 「スクアレン」(squalene)

コレステロール合成の中間体となる、炭素数 30 からなる炭化水素。1906 年にツノザメ科 (squalidae) に属する深海鮫の肝油から発見されたことから、辻本満丸博士により命名された。

注 4 「E3 ユビキチンリガーゼ」(E3 ubiquitin ligase)

分解すべきタンパク質に付加される、ユビキチンと呼ばれる小さなタンパク質を付加する酵素。ユビキチンが付加されたタンパク質は、基本的にはプロテアソームと呼ばれる巨大な酵素複合体により分解される。

注 5 「HMG-CoA 還元酵素」(HMG-CoA reductase)

ヒドロキシメチルグルタリル CoA 還元酵素。コレステロール合成経路の比較的上流において、ヒドロキシメチルグルタリル CoA をメバロン酸へと変換する酵素。スタチンの標的酵素として有名。

注 6 「スタチン」 (Statins)

コンパクチンやアトロバスタチンなどの HMG-CoA 還元酵素阻害剤の総称。HMG-CoA 還元酵素の触媒ドメインに結合し、阻害する。血中のコレステロールを低下させる作用があることから、脂質異常症治療薬として広く使用されている。

注 7 「光親和性標識法」 (photoaffinity labeling)

光照射により共有結合を形成する「仕掛け」(光反応生官能基)を組み込んだ低分子化合物を用いることで、低分子化合物とタンパク質などの相互作用を共有結合により固定して観測する手法。

注 8 「SM 阻害剤」 (squalene monooxygenase inhibitors)

抗真菌剤として使用されているテルビナフィンやブテナフィンは、真菌の SM の触媒ドメインに結合し、その触媒活性を阻害する。ヒトの SM に対しては結合が弱いことから、真菌におけるステロール合成を選択的に阻害する。

添付資料：

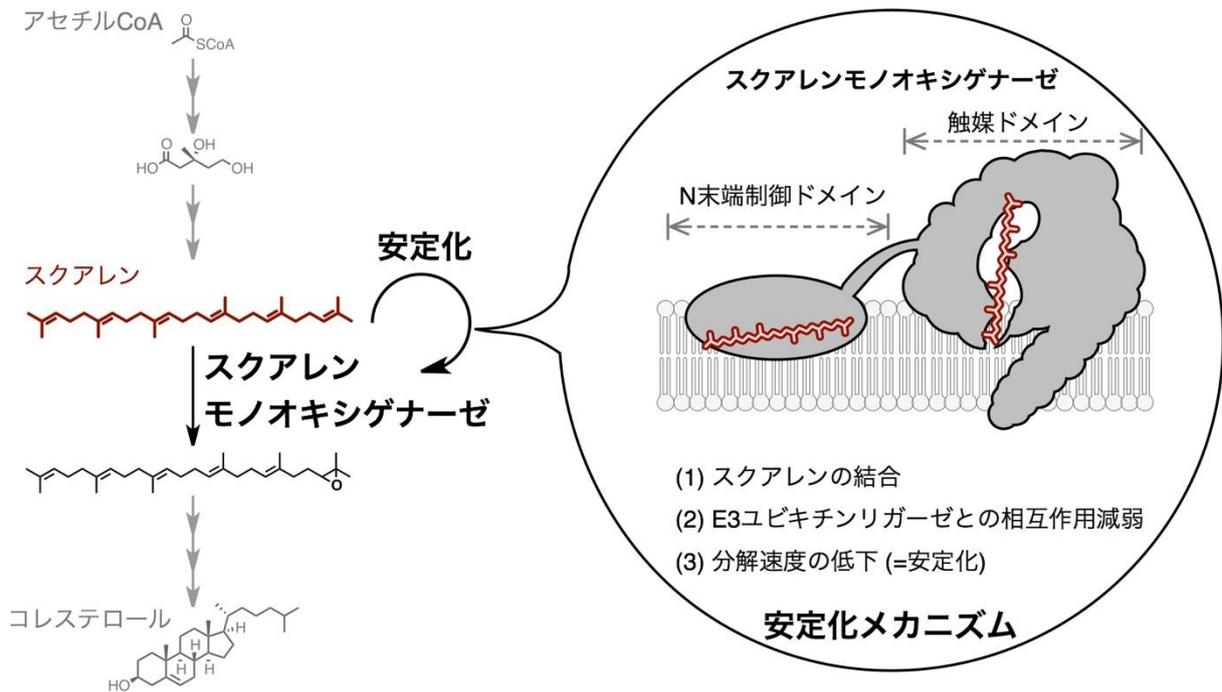


図 1: コレステロール合成経路上の酵素スクアレンモノオキシゲナーゼは、基質となるスクアレンを N 末端制御ドメインで感知し、安定化される。安定化により酵素タンパク質の量を増やすことで、スクアレンを代謝する能力を上げ、コレステロール合成経路の恒常性を保つのに寄与すると考えられる。