

～老化や酸化ストレスを原因とする疾患への治療法開発に期待～
亜鉛イオンを介した ERp18 の新たな機能制御メカニズムを解明

京都産業大学 永田 和宏名誉教授、大学院生命科学研究科潮田 亮准教授、大学院生の堤 智香らの研究グループは、ヒトなどの細胞内にある酵素「ERp18」が亜鉛イオンと結合して、老化を進める活性酸素を分解し、老化を抑制する機能を持っていることを解明しました。このことは、老化や酸化ストレスを原因とする疾患(アルツハイマー病などの神経変性疾患、腎機能障害、心不全など)の対策に新たな知見をもたらすことが期待される成果です。

■研究のポイント

- ERp18 は活性中心を介して亜鉛イオン(Zn^{2+})と結合し、三量体を形成する。
- Zn^{2+} と結合していない ERp18 は酸化還元酵素として機能するが、 Zn^{2+} 結合した三量体 ERp18 はカタラーゼ様の過酸化水素除去活性を獲得する。
- ERp18 の過酸化水素除去活性は、酸化ストレス^{*1}や細胞老化の進行を抑制する。また、ERp18 は線虫の個体老化にも影響を与え、ERp18 の発現抑制は線虫の寿命を短縮させた。

■概要

京都産業大学 生命科学部の永田和宏名誉教授、潮田亮准教授、生命科学研究科大学院生の堤智香らの研究グループは、 Zn^{2+} を介した ERp18 の新たな機能制御メカニズムを解明しました。この制御機構の発見は、細胞内の Zn^{2+} 動態と、老化や酸化ストレスを原因とする疾患を結びつける重要な発見であり、疾患発生メカニズムの理解から、新たな治療法開発の足掛かりになることが期待されます。

本研究の成果は 2024 年 2 月 7 日(月)午前 11 時(米国東部時間)に Cell Reports のオンライン速報版で公開されました。

■背景

細胞小器官の一つである小胞体は、タンパク質フォールディングの場として知られ、細胞内で合成される 1/3 ものタンパク質が小胞体成熟します。小胞体にはタンパク質のフォールディングを促すため、多くの分子シャペロンや酸化還元酵素が存在し、フォールディングを介助します。また、小胞体で合成されるタンパク質の多くは、翻訳後に糖鎖付加やリン酸化などの翻訳後修飾^{*2}を受け成熟します。その中でも、ジスルフィド結合形成はタンパク質の構造を保つうえで重要な翻訳後修飾です。ジスルフィド結合の形成は小胞体内の酸化酵素によって触媒されますが、その反応過程で活性酸素種^{*3}のひとつである過酸化水素を発生させます。産生された過酸化水素は、酸化反応に有利な環境を作る環境要因の1つですが、過剰な過酸化水素の産生は酸化ストレスを惹起させ、細胞老化の原因になることが知られています。したがって、細胞内の過酸化水素濃

度がどのように適切に維持されているかを理解することは重要な課題であると言えます。サイトゾル^{*4}の場合、主要な還元酵素チオレドキシシンが抗酸化反応の中心を担い、酸化ストレスから細胞を防御しています。今回、我々が注目した ERp18 はサイトゾルのチオレドキシシンと類似した構造を持つことが知られておりましたが、これまで小胞体でどのような役割があるのか不明な点が多いのが現状でした。本研究では、精製 ERp18 による試験管内の実験から、モデル生物である線虫^{*5}を用いた個体レベルの実験まで行い、ERp18 の機能解明を目指し、研究を進めました。

■研究成果

哺乳類から線虫まで、ERp18 の遺伝子を持つ生物においてアミノ酸配列の保存性を調査したところ、ERp18 は酸化還元反応の活性中心 CXXC モチーフ^{*6}の付近にヒスチジン残基(H)が存在することが分かりました。このヒスチジン残基と CXXC モチーフを含む HXXXCXXC モチーフは、 Zn^{2+} と相互作用する可能性があることが示唆され、ERp18 が ERp18 は HXXXCXXC モチーフを介して Zn^{2+} と結合し、 Zn^{2+} との結合が ERp18 三量体形成の引き金であることを見出しました。この Zn^{2+} 結合型の三量体 ERp18 は、ERp18 が本来持っていた酸化還元活性を失っており、その代わりに過酸化水素の除去活性を獲得しました(図 1)。2 つの異なる酵素活性を Zn^{2+} 依存的な多量体化によって切り替えるという発見は、これまでに例のないユニークな機能制御機構でした。さらに、ERp18 の欠失した細胞では、分解できなかつた過酸化水素が小胞体からサイトゾルへ漏出し、酸化ストレスや細胞老化の亢進を引き起こすことがわかりました。ERp18 による酸化ストレスや老化に対する影響は、線虫においても同様の影響が認められ、線虫での ERp18 ノックダウンは寿命の短縮を引き起こしました(図 2)。本研究による新たな過酸化水素分解機構の発見は、老化の分子メカニズムや酸化ストレスに関連する疾患の発症機構を解明するための重要な知見であると言えます。

■今後の展開

今回、機能未知因子であった ERp18 の Zn^{2+} による機能の切り替えと、その活性が酸化ストレスや寿命に影響を及ぼすことを見出しました。酸化ストレスは老化を早めるだけではなく、神経変性疾患、腎機能障害、心疾患の原因のひとつであると考えられています。 Zn^{2+} を介した ERp18 による抗酸化反応の活性化は、これらの疾患に対する新たな治療戦略に繋がると考えています。また、 Zn^{2+} は私たち人間が健康に生きていくための微量必須元素として、毎日の摂取が推奨されています。 Zn^{2+} の不足もまた、味覚障害をはじめ皮膚炎や脱毛症などの症状を引き起こす原因であるとされています。これらの症状には原因不明のものも多く、ERp18 の関与を追及することで、発症メカニズムの解明に貢献できると期待しています。

■謝辞

本研究は、科学技術振興機構における戦略的創造研究推進事業 JST-CREST「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学与先端的基盤技術」研究領域 研究課題名「小胞体恒常性

維持機構:Redox, Ca²⁺, タンパク質品質管理のクロストーク(課題番号:JPMJCR13M6 研究代表者:永田 和宏)、科学研究費補助事業における学術変革領域研究(A)「新興硫黄生物学が拓く生命原理変革」研究領域 研究課題名「タンパク質品質管理を支える電子移動媒体としての超硫黄分子の役割」(課題番号:21H05268 研究代表者:潮田 亮)、科研費「基盤研究(S) (課題番号:JP18H04002 研究代表者:永田 和宏)」、科研費「基盤研究(B) (課題番号:JP22H02622 研究代表者:潮田 亮)」、科研費「基盤研究(C) (課題番号:JP18K06140 研究代表者:潮田 亮)」、日本医療研究開発機構(AMED)における革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」研究領域 研究課題名「プロテオスタシスにおけるタンパク質構造形成機構の包括的解明」(課題番号:JP21GM1410008 研究代表者:田口 英樹 研究分担者:潮田 亮)、科研費「特別研究員(DC1) (課題番号:17J05866 研究代表者:上垣 日育)、(課題番号:18J21570 研究代表者:堤 智香)」および武田科学振興財団の支援により実施されました。

■用語・事項の解説

1. 酸化ストレス

細胞内には、活性酸素種による損傷を防ぐいくつかの抗酸化システムが備わっており、酸化ストレスを防いでいる。酸化ストレスとは活性酸素種による損傷作用と、抗酸化システムとの均衡が破綻し、生体分子の損傷が上回った時に発生するストレスのこと。

2. 翻訳後修飾

タンパク質合成装置リボソームの翻訳によって合成されたタンパク質が受ける化学的修飾である。タンパク質の立体構造や機能発現、活性の強さに影響を与える。

3. 活性酸素種

反応性の高い酸素原子を含む分子で、ROS (reactive oxygen species)としても知られる。その高い反応性により、DNA タンパク質、脂質に損傷を与え、発癌や老化を促進する一因である。

4. サイトゾル

細胞の中の核、ミトコンドリア、小胞体などの細胞小器官を除いたそれ以外の部分。

5. 線虫

体長~1 mm で飼育しやすく、ライフサイクルが短い、体が透明である、全ゲノム配列が解読済みである、などの理由から、モデル生物として研究材料としてよく用いられている。その特性から、寿命や神経伝達、蛍光タンパク質を用いた観察に適したモデル生物である。

6. CXXC モチーフ

酸化還元反応の活性中心となる部分。CXXC モチーフの、C はシステイン残基を指し、X の位置にはタンパク質によって異なるアミノ酸残基が当てはまる。

■論文情報

論文タイトル	「Zn ²⁺ -dependent functional switching of ERp18, an ER-resident thioredoxin-like protein」 (小胞体チオレドキシン様タンパク質 ERp18 の Zn ²⁺ 依存的な機能制御)
掲載誌	米国科学雑誌「Cell Reports」(オンライン版)
掲載日	2024年2月7日(11:00)(米国東部時間)
著者	堤智香 ¹ 、上垣日育、山下龍志、潮田亮 ² 、永田和宏 ² (京都産業大学生命科学部、京都産業大学タンパク質動態研究所) (¹ 筆頭著者、 ² 責任著者)(研究当時)
DOI	10.1016/j.celrep.2024.113682

【研究に関する問い合わせ】

京都産業大学 准教授 潮田 亮 (うしおだ りょう)

TEL:075-705-3017 Email:ryo3ussy3@cc.kyoto-su.ac.jp

研究室ホームページ:<https://ushioda-lab.com/>

【報道に関する問い合わせ】

京都産業大学 広報部

TEL:075-705-1411 FAX:075-705-1987 E-mail:[kouhou-](mailto:kouhou-bu@star.kyoto-su.ac.jp)

[bu@star.kyoto-su.ac.jp](mailto:kouhou-bu@star.kyoto-su.ac.jp)

■添付資料

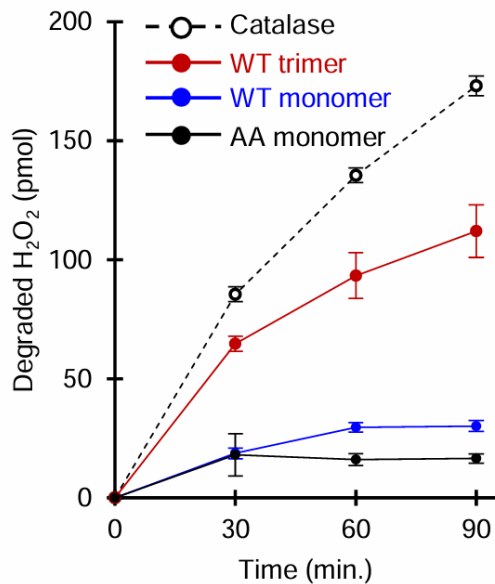


図 1: カタラーゼ様過酸化水素除去活性の測定
 精製 ERp18 を用いて、Zn²⁺が結合した三量体 ERp18 を再構成し、過酸化水素除去活性を測定した。赤は Zn²⁺が結合した三量体 ERp18、青は Zn²⁺と結合していない単量体 ERp18、黒は Zn²⁺との結合能がない ERp18/AA 変異体の活性を示す。破線は、既知の過酸化水素分解酵素であるカタラーゼの測定結果である。各タイムポイントで分解された過酸化水素の量を示しており、ERp18 は Zn²⁺と結合し、三量体化することで、過酸化水素除去酵素としての活性を獲得したことが分かった。

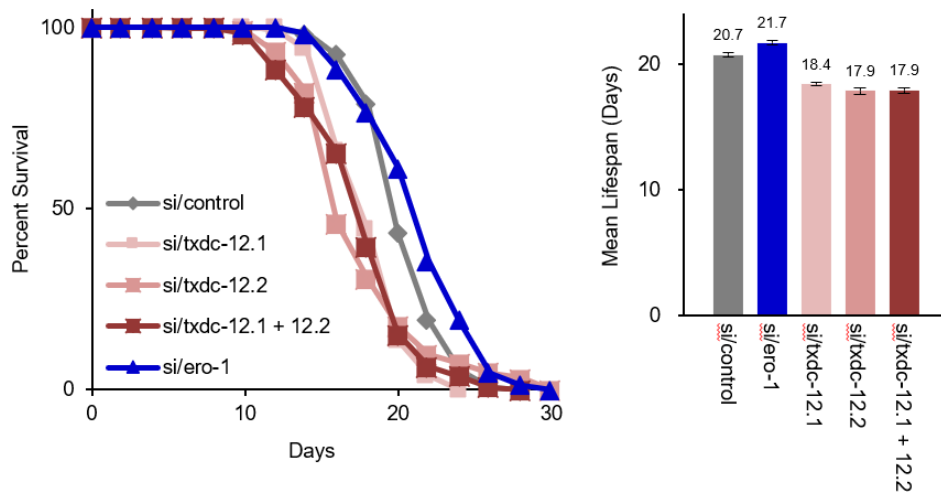


図 2: ERp18 ノックダウンは線虫の寿命を縮める

ERp18 の線虫ホモログ txdc12.1 と txdc12.2 をノックダウンし、コントロールの線虫と寿命の比較を行った。コントロールの線虫(灰色)では平均寿命 20.7 日だったのに対し、txdc12.2 ノックダウンまたは txdc12.1 と txdc12.2 のノックダウンで平均寿命が 86.5% (17.9 日)に短縮した。

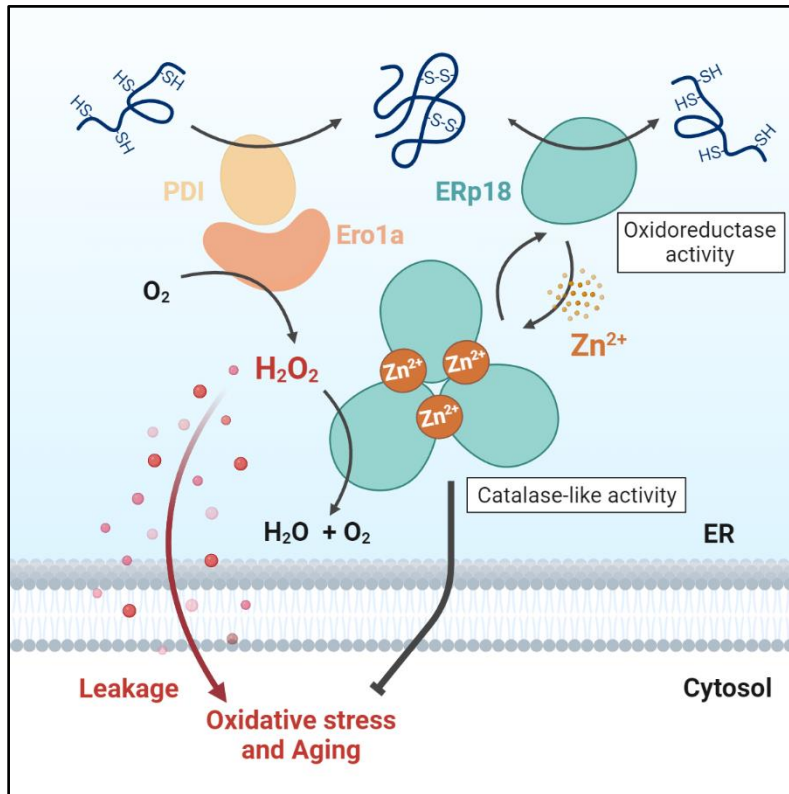


図 3: Zn^{2+} に依存する ERp18 の活性制御機構

単量体 ERp18 は自身の活性中心である CXXC モチーフで、ジスルフィド結合の酸化還元反応を触媒する。一方、HXXXCXXC モチーフで Zn^{2+} と結合し、三量体を形成することで、酸化還元活性を失う代わりに過酸化水素分解活性を獲得し、酸化ストレスを抑制し、老化を遅くする。