

ABC トランスポーター BCRP の 小胞体膜タンパク質 Derlin-1 による品質管理

分子機能薬学専攻 遺伝子機能応用学分野 杉山崇

Breast cancer resistance protein (BCRP) は腎臓、腸管、肝臓、脳などの様々な正常組織や癌細胞に発現する ABC トランスポーターの一種である。BCRP の本来の生理的作用は内在性あるいは外来性の細胞障害性物質を細胞外に排出し、組織を保護することである。しかしながら、その幅広い基質認識性ゆえに BCRP は種々の薬物に対しても細胞外排出作用を有し、結果として薬物の治療的効果を減弱させてしまう。特に癌細胞において発現上昇した BCRP は化学療法における多剤耐性獲得に寄与して問題視されている。一方、ビタミンや尿酸、葉酸などの生体内必須成分も BCRP の基質となることが明らかになりつつあり、BCRP の機能低下が高尿酸血症などの疾患に結び付くことも示された。このように、BCRP は多彩な基質輸送を担うことから生理学的、病理学的な観点から非常に重要な分子であり、その機能は過不足なく調節されていなければならない。よって BCRP の機能発揮に直接的に影響を与える発現調節メカニズムを明らかにすることは重要な意義を持つものと言える。

BCRP の発現調節は DNA からの転写段階および翻訳後修飾段階で調節されており、実際にトランスポーターとして機能するタンパク質レベルを一定に保つ翻訳後修飾、なかでも小胞体 (ER) を中心とした BCRP の品質管理に関する研究が進みつつある。特に細胞内のタンパク質量のバランスを保つメカニズムとして、BCRP の小胞体関連分解 (ER associated degradation ; ERAD) に関する検討が進められ、一定の成果が得られている。定常状態の BCRP に対する ERAD は変異型においてのみ顕著に起こることが報告されており、野生型 BCRP と変異型 BCRP を選別するようなチェックポイントの存在が示唆されていた。また、野生型 BCRP も脱糖鎖を受けると ERAD 感受性を示すようになることも報告されており、BCRP の品質管理における糖鎖付加の重要性が示されていた。しかしながら糖鎖付加依存的な BCRP チェックポイントという観点からの検討はなされておらず、関連する分子メカニズムについても全く不明であった。そこで、本研究では、糖鎖付加状態が BCRP の野生型と変異型を区別するチェックポイントの一端であるという仮説に基づき、野生型 BCRP と糖鎖付加不全変異型 N596Q BCRP に対して異なった発現変化を起こすような因子をスクリーニングした。その結果、ER 膜タンパク質である Derlin-1 が、BCRP の糖鎖付加状態に応じて異なる発現変化を起こすことを見出した。

Derlin-1 の過剰発現に伴って野生型 BCRP の ER からゴルジ体 (Golgi) への輸送が抑制されており, Derlin-1 は野生型 BCRP に対する ER retention 作用を有することが明らかになった. ER retention の結果として形質膜上への BCRP 発現が抑制されていたことから, Derlin-1 の過剰発現は野生型 BCRP の機能を負に制御することが示唆された. さらに, ヒト乳癌細胞 MCF-7 においても Derlin-1 過剰発現による内在性 BCRP の ER retention 作用が確認されたため, Derlin-1 は生理的条件下においても BCRP の発現調節を行うことが示唆された. 一方, N 型糖鎖付加不全変異型 N596Q BCRP 発現時に Derlin-1 を過剰発現させると, N596Q BCRP 発現量の顕著な減少が確認された. また, N596Q BCRP の発現は, ERAD 関連タンパク質分解阻害剤 MG-132 処理および Derlin-1 のノックダウンにより上昇した. これらの結果により, Derlin-1 が N596Q BCRP に対して ERAD を介した負の発現調節を行う因子であることが明らかになった. 最後に, Derlin-1 のノックダウンは Tunicamycin 処理により脱糖鎖状態となった野生型 BCRP の ERAD も抑制したことから, Derlin-1 は BCRP の糖鎖付加状態を認識し, 脱糖鎖状態の BCRP 分解を促進する因子であることが示された.

以上, 本研究では BCRP の品質管理における Derlin-1 の負の役割を初めて明らかにした. BCRP のタンパク質レベルでの具体的な発現調節因子はこれまでに報告されておらず, 今回同定した Derlin-1 の作用は BCRP の糖鎖付加依存的なチェックポイントという, 新規の BCRP 発現制御メカニズムに相当すると考えられる. Derlin-1 発現誘導は野生型 BCRP の形質膜上発現を抑制するため, BCRP 活性上昇が問題となる多剤耐性を緩和し得る可能性を秘めている. 本知見は今後の BCRP 関連研究の基礎として, 様々な BCRP が関与する病理学的, 生理学的現象の解明に有益なものとなるだろう. また, 今日までに Derlin-1 の糖鎖付加依存的な基質分解制御を示唆する報告は少数であり, 本研究は Derlin-1 の新規機能を明確に示したという点からも意義深く, タンパク質品質管理の研究領域からも大変ユニークな知見であると思われる.