

審査の結果の要旨

氏名 大金 賢司

コレステロールは細胞の生存に必須な脂質であり、その細胞内における存在量、分布は厳密に制御されている。このようなコレステロールホメオスタシスが保たれるメカニズムを明らかにすることは非常に重要な課題である。Brown & Goldsteinらの功績により、細胞外から low-density lipoprotein (LDL)としてコレステロールが受容体依存性エンドサイトーシスにより取り込まれ、取り込まれたコレステロールはコレステロールの合成や取込みを抑制するというフィードバック機構の多くが明らかとなってきた。しかしながら、エンドサイトーシスされたコレステロールがエンドソームから細胞膜や小胞体などの他のオルガネラへ輸送される過程は、未だ十分には理解されていない。このコレステロールの細胞内輸送過程に異常をきたす疾患として、遺伝性の難病であるニーマンピック病C型が知られており、その原因としてNPC1が同定されている。NPC1は、上記のコレステロールのエンドソームからの輸送に必須なタンパク質であることが分かっているが、そのメカニズムが明確になっていない。

大金賢司は本研究において、(1) ニーマンピック病C型の原因となるNPC1変異体のフェノタイプを修正するステロール誘導体の創製を行い、その過程で(2) NPC1の新規ステロール結合部位を発見した。(1)は、治療法が求められているニーマンピック病C型に対して新たな治療薬が創製できる可能性を示したものである。(2)は、NPC1によるコレステロールの細胞内輸送メカニズムの解明に、大きく寄与する可能性がある発見である。

(1) 変異NPC1のフェノタイプを修正するステロール誘導体の創製

ニーマンピック病C型は、主にNPC1の変異、そして機能欠損により起こる。代表的な変異であるI1061T変異は、NPC1の機能を直接損なうのではなく、そのフォールディング効率を低下させ、局在異常を起こすことで間接的に機能欠損を起こしていることが報告されている。近年、フォールディング効率の低下をリガンドを用いて修正することが可能であることが分かってきており、そのような作用を持つリガンドはファーマコロジカルシャペロンと呼ばれている。以前からNPC1がステロールと結合することが報告されていたことから、ステロールがNPC1変異体に対してファーマコロジカルシャペロンとして作用するという仮説のもとに研究を開始した。その結果、オキシステロールの1つである25-hydroxycholesterol (25HC)がNPC1変異体の局在異常を修正すること

を見出し、構造展開により高活性な誘導体を得ることに成功した。そして、光親和性標識法を用いた結合評価などにより、それらが NPC1 に対して期待したとおりにファーマコロジカルシャペロンとして作用していることを証明した。さらに、I1061T 変異を持つ患者由来細胞を用いて、それらのステロール誘導体が NPC1 の機能欠損により起こる特徴的なフェノタイプであるコレステロールの細胞内蓄積を緩和することを示した。この結果は、ファーマコロジカルシャペロンのニーマンピック病 C 型に対する治療法としての可能性を実験的に示したものである。

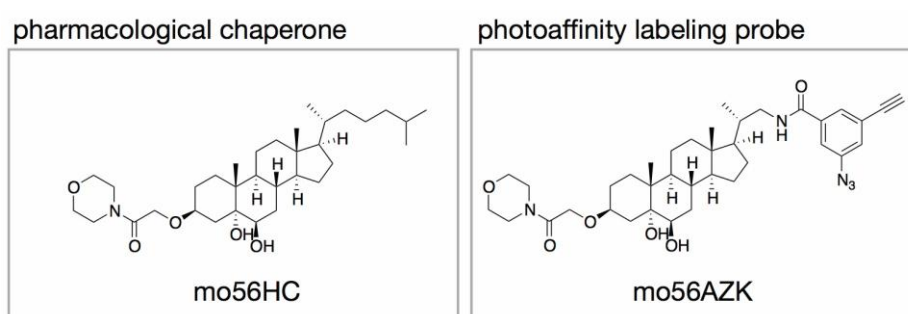


図 1: NPC1 に対してファーマコロジカルシャペロンとして作用するステロール誘導体の構造と、光親和性標識プローブの構造

(2) NPC1 の新規ステロール結合部位の発見

NPC1 のステロール結合部位は、N 末端の可溶性ループの N 末端ドメインであることが最近報告され、その結晶構造も報告されている。(1) の過程で得られたステロール誘導体の構造活性相関と、N 末端ドメインの結晶構造の間に矛盾が見られたことから、「ファーマコロジカルシャペロン作用を示すステロール誘導体の結合部位は、N 末端ドメインではない」との仮説を立て、その検証を行った。その結果、N 末端ドメインを欠失させた NPC1 変異体に対しても、ステロール誘導体は直接結合し、ファーマコロジカルシャペロン作用を示すことが明らかとなった。これらの結果から、NPC1 には N 末端ドメイン以外にも第二のステロール結合部位が存在し、ステロール誘導体はその結合部位を介して作用していることを証明した。そしてこれらの結果に基づき、この第二のステロール結合部位が、コレステロールが膜を隔てて輸送される際の基質結合部位である可能性を提案した。

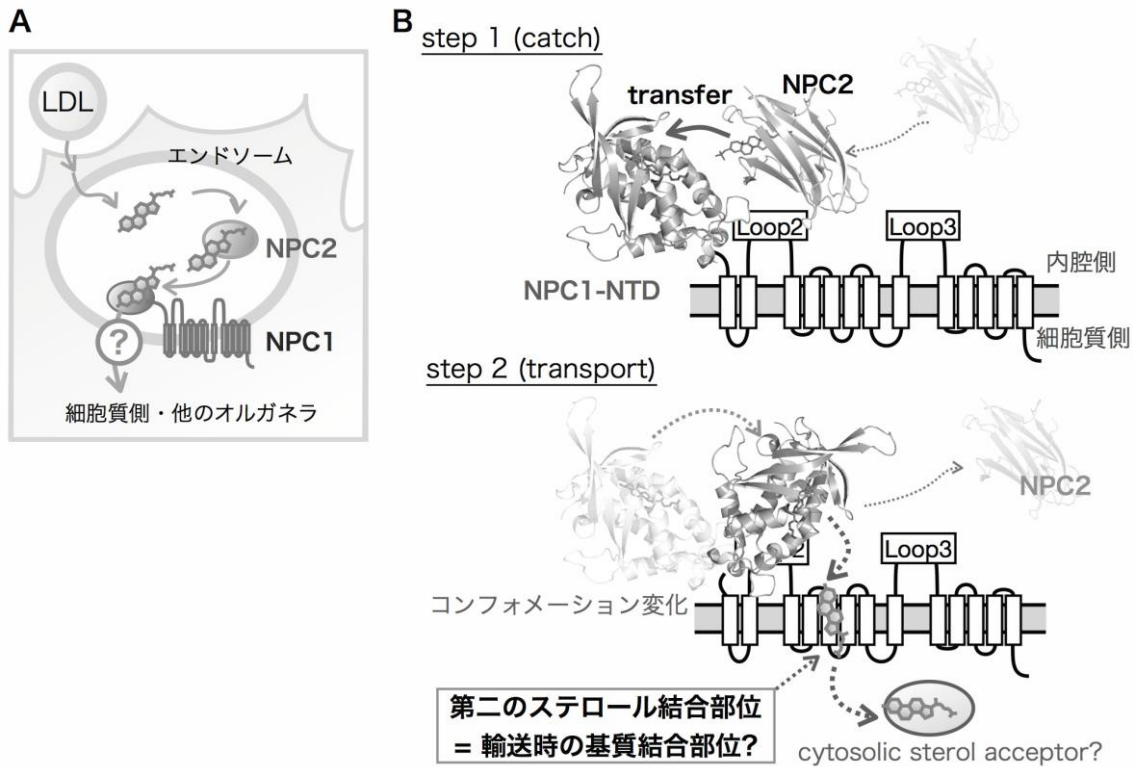


図 2: A. コレステロールの細胞内輸送経路における NPC1 の役割。 B. 第二のステロール結合部位の存在を考慮した NPC1 によるコレステロール輸送モデル。

NPC1 によるコレステロール輸送のメカニズムは未だ十分に理解されていないが、この研究で見つかった第二のステロール結合部位の存在を考慮することで、コレステロール輸送モデルに関して新たな仮説の構築、そして検証が可能となる。

以上のように、大金賢司はニーマンピック病 C 型に対するファーマコロジカルシャペロンを初めて見出し、その新たな治療法としての可能性を示した。さらに、コレステロール輸送メカニズムの解明につながる成果として、NPC1 に第二のステロール結合部位が存在することを証明し、NPC1 の機能解明、そしてコレステロールの細胞内輸送メカニズムの解明に寄与する成果を上げた。これらの成果は、博士（薬学）の学位授与に値すると判断した。