

リポタンパク質の分泌の仕組みの解明に新たな手がかり —小胞体膜タンパク質 VMP1 の新規機能を発見—

1. 発表者：

森下 英晃（研究当時：東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 助教、現所属：同 客員研究員、順天堂大学大学院医学研究科 講師）
田村 律人（研究当時：東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 特任研究員、現所属：日本学術振興会特別研究員 PD）
水島 昇（東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆血中で中性脂肪やコレステロールを運搬するリポタンパク質（注1）は、小腸上皮細胞や肝細胞の小胞体（注2）で形成されます。
- ◆今回、リポタンパク質が小胞体膜から小胞体内腔へ離脱するのに、小胞体膜タンパク質 VMP1（注3）が必要であることがわかりました。
- ◆本研究の成果は、腸での脂肪吸収や体内での脂肪再分布の仕組みの解明につながるとともに、脂質異常症などの疾患の理解に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

脂質は水に溶けにくい性質を持っています。そのため、小腸から吸収した脂質や、肝臓で合成した脂質を全身の組織に供給するには、脂質を運搬タンパク質と結合させてリポタンパク質という水に溶けやすい状態にする必要があります。リポタンパク質は、小胞体の膜内で合成されたコレステロールや中性脂肪が小胞体内腔へ離脱し、リン脂質一重層とアポリポタンパク質に取り囲まれることで形成されます（図1）。しかし、この過程の分子メカニズムには不明な点が多く残っています。

今回、東京大学大学院医学系研究科の水島昇教授らの研究グループは、マサチューセッツ州立大学の Zhao Yan（チャオ・ヤン）博士、東京医科歯科大学の酒卷有里子氏、岡崎三代名誉教授らと共同で、オートファジー（注4）に必要な小胞体膜タンパク質 VMP1 が、リポタンパク質の小胞体膜から内腔への離脱にも必要であることを、ゼブラフィッシュ、マウス、ヒト培養細胞を用いた解析から明らかにしました。最近、ヒト VMP1 遺伝子の一塩基多型（SNP）（注5）と血中のコレステロール値との関連が報告されていますので、本研究の成果は、リポタンパク質の形成・分泌機構の解明につながるとともに、脂質異常症などの疾患の理解に貢献することが期待されます。

本研究は国立研究開発法人科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究（ERATO）「水島細胞内分解ダイナミクスプロジェクト」（研究総括：水島昇）、日本学術振興会 新学術領域研究「オートファジーの集学的研究」（領域代表：水島昇）の計画研究「オートファジーの生理・病態生理学的意義とその分子基盤」、および若手研究「ゼブラフィッシュを用いたオートファジー関連因子群の生理機能の解明」（研究代表：森下英晃）の支援を受けて行われました。

本研究成果は、国際科学誌「eLife」のオンライン版で公開されます。

4. 発表内容：

(1) 研究の背景

コレステロールや中性脂質は、細胞膜やホルモンの構成成分やエネルギー源として生体にとって必要不可欠な成分です。これらの脂質は水にほとんど溶けないため、脂質の吸収部位や合成部位（小腸、肝臓）から使用部位（全身の細胞）へは、水に溶けやすいリポタンパク質として運搬されます。リポタンパク質は哺乳動物の胎生初期にも臍側内胚葉（注6）で合成され、胎盤ができるまでの間に母体側から胎児側へ脂質を輸送する役割を担っています。

リポタンパク質は、中心にコレステロールや中性脂質を含み、外側はリン脂質一重層やアポリポタンパク質で覆われています（図1）。このような構造は、小胞体の膜内で合成されたコレステロールや中性脂質が小胞体内腔へ離脱する過程で形成されます（図1）。これまでにこの過程には、リポタンパク質を構成するタンパク質のアポリポタンパク質B、そのシャペロンとして脂質を輸送すると考えられているMTP、リン脂質生合成酵素LPCAT3などが重要な役割を担うことが知られていましたが、小胞体の膜から内腔へリポタンパク質が離脱する過程の仕組みは十分に解明されていませんでした。

(2) 研究内容

本研究では、オートファジーに必要な小胞体膜タンパク質VMP1の生体内での役割を解明するため、VMP1を欠損させたゼブラフィッシュとマウスを作製して解析しました。その結果、*vmp1*欠損ゼブラフィッシュ（オートファジーは抑制され、受精後9日前後で致死となります）の腸管と肝臓の細胞内に、中性脂質を含む巨大な脂質構造体が蓄積することがわかりました（図2）。このような異常は、他のオートファジーに必須な遺伝子（*fip200/rb1cc1*や*atg5*）を欠損するゼブラフィッシュでは認められなかったことから、VMP1はオートファジーとは異なる脂質代謝経路でも重要な役割を担っていると考えられました。全身*Vmp1*欠損マウス（胎生8.5日前後で致死）の臍側内胚葉の細胞内や、腸管上皮細胞特異的*Vmp1*欠損マウスの小腸上皮細胞内にも、同様な脂質構造体が蓄積していました。また後者の成獣マウスは体重減少を来し、血中のコレステロールや一部のリポタンパク質の濃度が低下していたことから、VMP1はリポタンパク質の血中への分泌に関係することがわかりました。実際、ヒト肝がん細胞株HepG2細胞を使った解析から、VMP1を欠損させるとリポタンパク質の分泌が減少することがわかりました。一方、VMP1はアルブミン、コラーゲンなどのリポタンパク質以外のタンパク質の分泌には必要ありませんでしたので、VMP1はリポタンパク質の分泌に特異的に関与していると考えられました。さらに、VMP1欠損細胞に蓄積した脂質がどこに蓄積しているかを調べたところ、小胞体の内腔ではなく小胞体の膜内に蓄積していることがわかりました（図3）。これらの結果から、VMP1はリポタンパク質の小胞体膜から小胞体内腔への離脱に必要であることが示唆されました（図3）。

本研究ではさらに、VMP1がリポタンパク質だけでなく脂肪滴の小胞体からサイトゾルへの離脱にも関与する可能性を示す結果を得ています。また過去には、粘菌やハエのVMP1は小胞体からゴルジ体への可溶性タンパク質の分泌に関与するという報告もあります。このようにVMP1は、オートファジー、リポタンパク質形成、脂肪滴形成、小胞体からゴルジ体への分泌といったさまざまな過程に関与します。これらのいずれの過程でも小胞体の膜の形がダイナミックに変化しますので、VMP1は小胞体膜の恒常性維持や形態変化などのリモデリングに関与している可能性が考えられます（図4）。

(3) 社会的意義

血中リポタンパク質の量や質の変化は、さまざまな疾患と関与することが知られています。例えば、リポタンパク質の分泌が低下すると低脂血症を引き起こします。一方、悪玉コレステロールと呼ばれる低比重リポタンパク質 (low density lipoprotein) の増加は、動脈硬化を進行させ、狭心症や心筋梗塞などの心疾患、脳出血や脳梗塞などの脳血管疾患のリスクを高めまします。これまでにリポタンパク質の合成や代謝に関するさまざまな研究や治療薬の開発が進められてきましたが、リポタンパク質の分泌の詳しい制御機構については十分に解明されていませんでした。今回発見した VMP1 はリポタンパク質の分泌の初期段階に関与する因子ですので、本研究が端緒となり、リポタンパク質の形成・分泌機構の理解がさらに進むと考えられます。またヒト VMP1 遺伝子における一塩基多型 (SNP) は血中のコレステロール値と関連することが報告されていますので、今後、ヒト疾患との関連の解明にもつながることが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*eLife*」 (英国時間 9 月 17 日オンライン版)

論文タイトル：A critical role of VMP1 in lipoprotein secretion

著者：Hideaki Morishita, Yan G. Zhao*, Norito Tamura*, Taki Nishimura, Yuki Kanda, Yuriko Sakamaki, Mitsuyo Okazaki, Dongfang Li, Noboru Mizushima** (*equally contributed, **corresponding author)

6. 注意事項：

特になし。

7. 問い合わせ先：

<本研究に関するお問い合わせ>

東京大学大学院医学系研究科 分子細胞生物学専攻 分子生物学分野
教授 水島 昇 (みずしま のぼる)

Tel : 03-5841-3440、Fax : 03-3815-1490

E-mail : nmizu@m.u-tokyo.ac.jp

<報道に関するお問い合わせ>

東京大学大学院医学系研究科 総務係

Tel : 03-5841-3304、Fax : 03-5841-8585

E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp

8. 用語解説：

(注1) リポタンパク質

血液中で脂質の運搬を担う球形粒子。内部に中性脂肪やコレステロールエステルなどの疎水性の脂質を含み、外部はリン脂質一重層やアポリポタンパク質 B によって覆われる。粒子の大きさ、比重の違いにより、カイロミクロン (chylomicron)、VLDL (very low density lipoprotein)、LDL (low density lipoprotein)、HDL (high density lipoprotein) に分類される。血液検査で測定される中性脂肪、LDL コレステロール、HDL コレステロールの値は、これらのリポタンパク質の量を反映している。

(注2) 小胞体

細胞小器官の一つ。細胞内で合成されたたんぱく質の約 3 分の 1 は小胞体に挿入され、適切な折りたたみと修飾を受けてから分泌される。また、カルシウムなどのイオンの貯蔵や脂質合成、その他の代謝・解毒などの重要な役割を持つ。

(注3) VMP1 (vacuole membrane protein 1)

真核生物にひろく保存された複数回膜貫通型の小胞体膜タンパク質の一つ。オートファジーに必要であることがこれまでにわかっていた。

(注4) オートファジー

細胞の主要な分解機能の一つ。オートファゴソームが細胞質基質やミトコンドリアなどの細胞小器官を取り囲み、リソソームと融合することで内容物を分解する仕組み。その生理的機能としては、飢餓への適応や細胞内の恒常性維持などが知られており、近年では特に神経変性疾患などとの関連が注目されている。

(注5) 一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP)

生物種集団のゲノム塩基配列において、一塩基が変異した多様性がみられ、その変異が集団内で 1% 以上の頻度で見られるとき、これを一塩基多型と呼ぶ。遺伝子領域にある一塩基多型の中には、タンパク質の量や機能などに違いを生み出すものがあり、この違いが、体質の違いや、ある特定の病気へのかかりやすさ、薬剤効果への反応性などの個人差を生み出す要因になり得る。

(注6) 臓側内胚葉 (visceral endoderm)

哺乳動物の受精卵が着床した後、胚本体に寄与する胚性外胚葉 (エピブラスト) に隣接して形成される単層上皮細胞層。胚の前後軸の形成や、母体からの栄養物の吸収・分泌などのさまざまな役割を担う。

9. 添付資料：

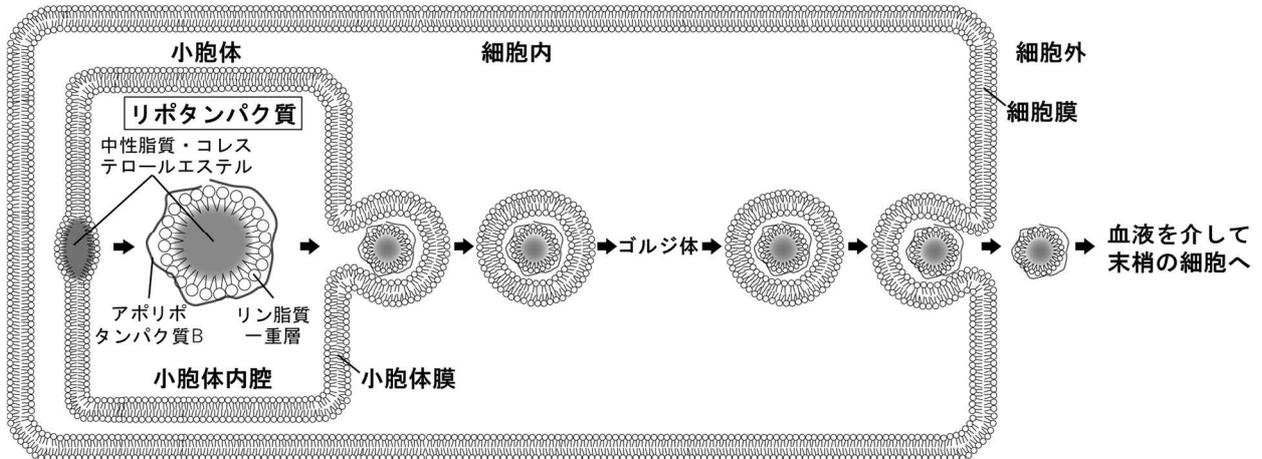


図1：リポタンパク質の構造と合成・分泌経路

リポタンパク質は小腸上皮細胞、肝細胞、臓側内胚葉細胞の小胞体で形成される。小胞体の膜内で合成された中性脂肪やコレステロールは、小胞体の内腔へと離脱する過程でアポリポタンパク質 B とリン脂質一重層に覆われ、リポタンパク質（カイロミクロン、VLDL など）になる。その後、ゴルジ体を経由して血液中へ分泌され、末梢の細胞へ脂質が輸送される。

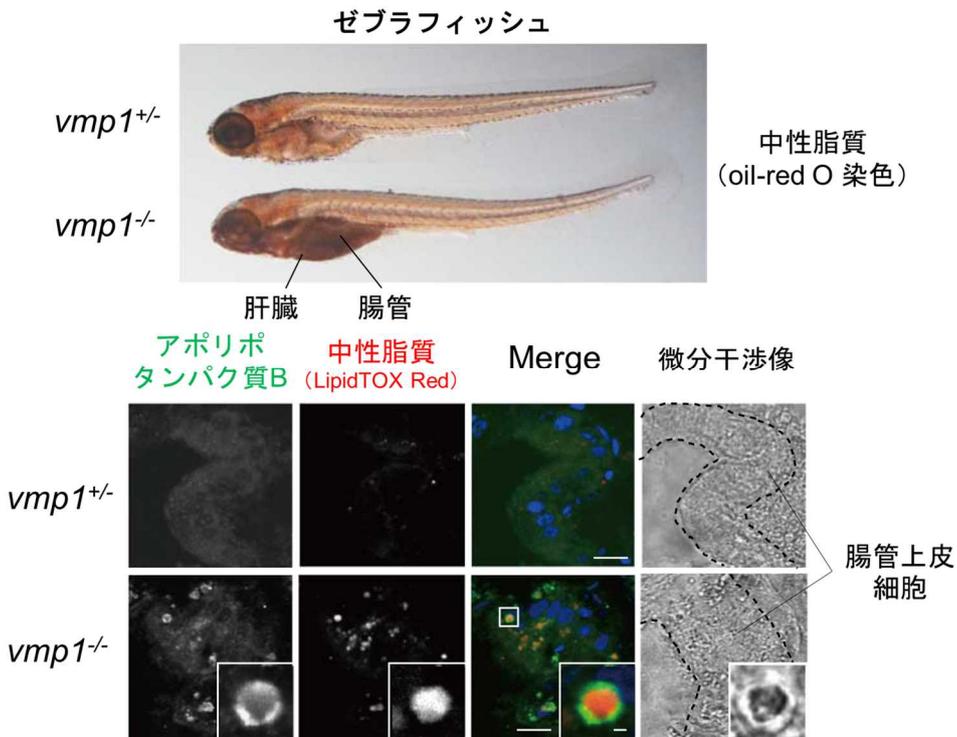


図2：vmp1欠損ゼブラフィッシュの肝臓と腸管の細胞にはリポタンパク質が蓄積する

vmp1欠損ゼブラフィッシュの肝細胞や腸管上皮細胞には中性脂質が蓄積する（上図、受精後 8.5 日）。これらの中性脂質は細胞内の小胞体の膜内に蓄積しており、リポタンパク質の主要構成成分のアポリポタンパク質 B 陽性であることから（下図、受精後 6 日）、vmp1欠損ゼブラフィッシュでは小胞体内におけるリポタンパク質の形成・分泌の初期段階が障害されていると考えられた。スケールバー：10 μm、1 μm（拡大像）。

*vmp1*欠損ゼブラフィッシュの肝細胞

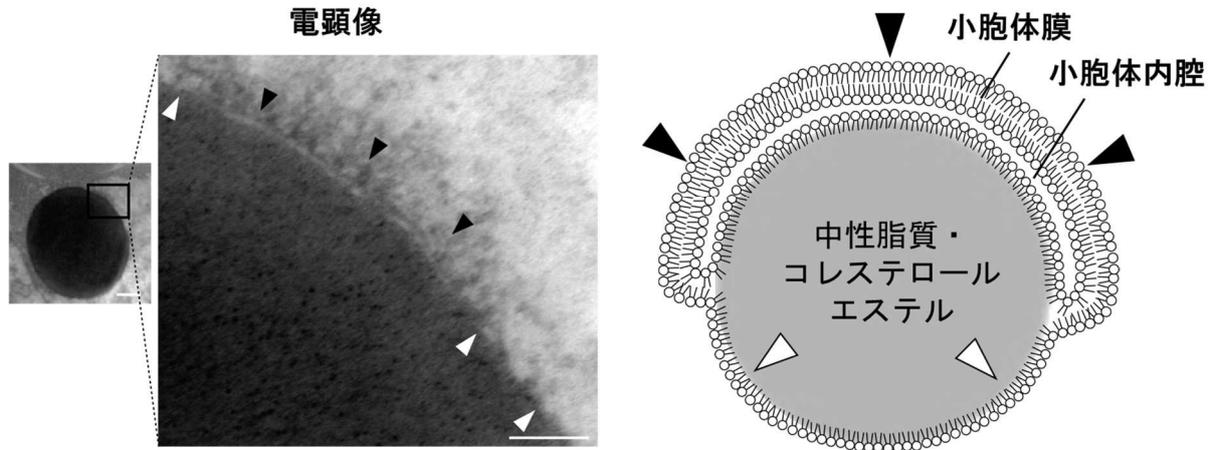


図3：*vmp1*欠損ゼブラフィッシュの肝細胞に蓄積した脂質構造体の電顕像とモデル

*vmp1*欠損ゼブラフィッシュ（受精後6日）の肝細胞に蓄積した巨大な脂質構造体の周囲の一部には、リボソームが付着した小胞体膜が存在する部分（左図の黒矢頭）と小胞体膜が存在しない部分（白矢頭）が存在する。これは小胞体膜内に中性脂質が蓄積したために生じた構造体であると考えられる（右図モデル）。スケールバー：500 nm、100 nm（拡大像）。

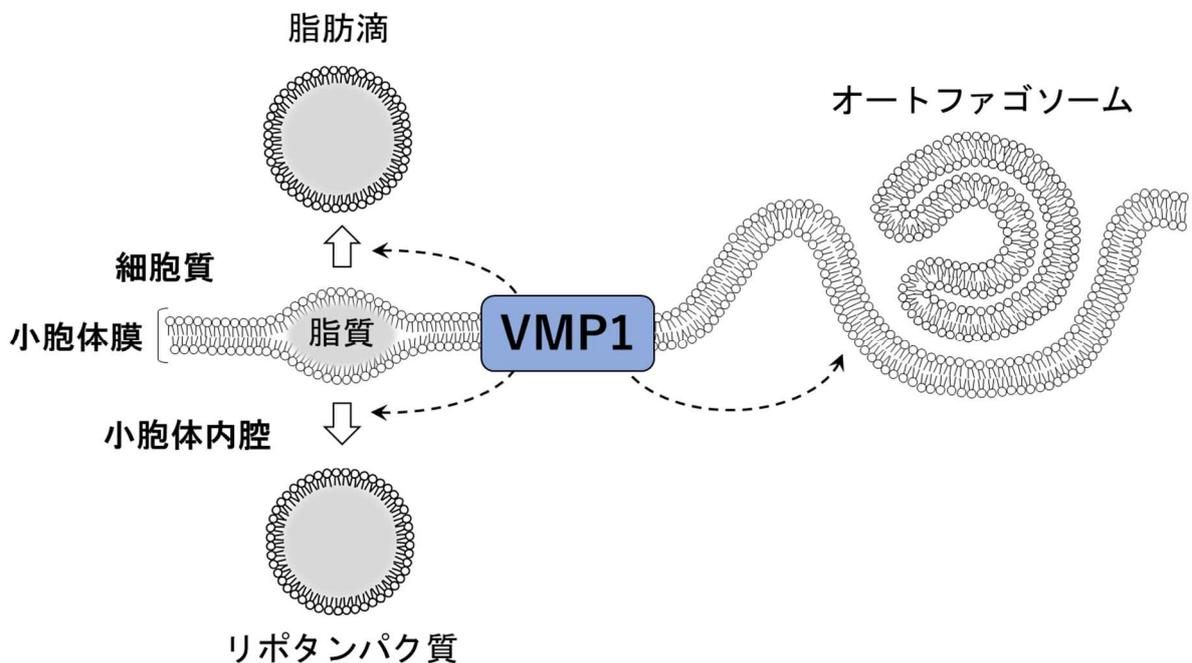


図4：小胞体膜タンパク質 VMP1 の機能のモデル図

VMP1 はオートファゴソーム、リポタンパク質、脂肪滴が正常に形成されるために必要。いずれの過程でも小胞体膜がダイナミックに変化することから、VMP1 は小胞体膜の恒常性維持や形態変化などのリモデリングに関与すると考えられる。