

平成 30 年 11 月 28 日

東北大学多元物質科学研究所

ヒト消化酵素が作られる仕組み

消化酵素が正しい構造に折り畳まれる過程に必要な因子を発見

【要点】

1. 膵臓が生産する消化酵素の一つであるエラスターゼが正しい立体構造に折り畳まれるためには PDIp と呼ばれるタンパク質が必要であることが分かった。
2. PDIp は膵臓で特異的に発現している PDI ファミリー酵素としてこれまで知られていたが、その役割については不明だった。本研究ではその役割を初めて明らかにした。
3. PDIp はエラスターゼ以外にもキモトリプシン、トリプシン、 α -アミラーゼなどと膵臓内で相互作用することが分かった。よって、PDIp は様々な消化酵素の生合成に働く可能性がある。

【概要】

東北大学多元物質科学研究所の門倉広准教授、藤本拓志（東北大学大学院生命科学科学研究科博士後期課程在学）、稲葉謙次教授、奈良先端科学技術大学院大学研究推進機構の河野憲二特任教授、九州大学生体防御医学研究所の松本雅記准教授らのグループは、膵臓で作られる消化酵素のうちのエラスターゼと呼ばれるタンパク質分解酵素が正しい立体構造に折り畳まれる過程で必要な新規の因子 PDIp を発見しました。ヒト由来の細胞中でエラスターゼを発現すると、エラスターゼは細胞内で凝集体（不溶性の塊）を形成し、正しい構造をとることができませんでした。ところが、PDIp とエラスターゼを細胞の中で同時に発現させると正しい立体構造のエラスターゼをつくることができました。即ち、PDIp は消化酵素の一つであるエラスターゼの立体構造が折り畳まれる過程で重要な役割を果たすことが分かりました。マウスの膵臓を調べたところ、PDIp は、エラスターゼ以外にも、トリプシン、キモトリプシン、 α -アミラーゼなど膵臓で作られる様々な消化酵素に作用することが分かりました。よって、これらの消化酵素が正しい立体構造に折り畳まれる過程でも PDIp は働いている可能性があります。本研究から得られる知見は、将来的には、膵臓に関連する病気の原因の解明やヒト由来の消化酵素を微生物や動物細胞の培養によって生産させる際に役立つと期待されます。

【詳細な説明】

私たちの体を構成している細胞は、様々なタンパク質を作って、細胞の外に放出しています。このような細胞の外で働くタンパク質は分泌タンパク質と呼ばれます。分泌タンパク質には、消化酵素やインスリンなど、私たちが健康な生活を送る上で重要な、様々なタンパク質が含まれます。消化酵素やインスリンを含む分泌タンパク質の多くは、その分子内にジスルフィド結合と呼ばれる構造を持ちます。ジスルフィド結合とはタンパク質上の2個のシステインと呼ばれるアミノ酸が酸化されて作られる分子内の架橋構造です。ジスルフィド結合は多くの分泌タンパク質が正しい構造に折り畳まれる上で極めて重要な役割を担っています。分泌タンパク質へのジスルフィド結合の導入は、ヒト細胞中では **Protein Disulfide Isomerase (PDI)** ファミリー酵素と呼ばれる一群の酵素によって触媒されます。ヒトの細胞中には **PDI** ファミリー酵素が 20 種類以上あることが知られています。そのうちの一つである **PDIp** は、インスリンや消化酵素を作る膵臓で特異的に発現していることが知られていましたが、その生理機能についてはほとんど分かっていませんでした。

本研究では、**PDIp** の生理機能を解明する目的で、本酵素が膵臓のなかで作用する相手となるタンパク質を同定することに挑戦しました。そのために、ジスルフィド結合が分泌タンパク質に導入される過程で、**PDI** ファミリー酵素と分泌タンパク質が分子間のジスルフィド結合でつながった、反応中間体が形成されることを利用しました (図1)。このような反応中間体を、マウスの膵臓から精製し、その中に含まれるタンパク質を解析したところ、**PDIp** は、 α -アミラーゼ、トリプシン、キモトリプシン、エラスターゼなどの消化酵素の元となるタンパク質 (活性型の消化酵素になる前のタンパク質) と結合することが分かりました。

膵臓には、主にインスリンなどの血中ホルモンを生産する内分泌細胞と、消化酵素を生産する外分泌細胞が存在します。マウスの膵臓から内分泌細胞と外分泌細胞を分取し、**PDIp** の分布を調べました。その結果、**PDIp** は膵臓の内分泌細胞ではなく、外分泌細胞に存在すること、即ち、**PDIp** は消化酵素を作る膵臓の外分泌細胞で働いていることが分かりました (図2)。この結果は **PDIp** が消化酵素の元となるタンパク質と結合するという上記の知見と合致します。

興味深いことに、同定されたタンパク質のうちの一つであるエラスターゼをヒト由来培養細胞株中で発現させると、エラスターゼの前駆体であるプロエラスターゼが細胞内で凝集体を形成しました。一方、エラスターゼと一緒に **PDIp** を発現させると、プロエラスターゼの凝集体の形成が抑制され、正しい立体構造をもつプロエラスターゼが細胞中に作られ (図3)、細胞外へと放出されました。さらに、**PDIp** 存在下生合成されたプロエラスターゼを微量のトリプシンで処理すると活性型のエラスターゼを得ることができました。このような実験か

ら、消化酵素の一つであるエラスターゼの正しい折り畳み過程に、PDIp が必要になることが分かりました。

さらに、PDIp 以外の代表的な PDI ファミリー酵素を、ヒト由来培養細胞株中でエラスターゼと一緒に発現させても、PDIp 以外の酵素は、PDIp の機能を代替することができませんでした。よって、PDIp は、進化の過程で、消化酵素の一つであるエラスターゼの折り畳み過程を促進するための機能を獲得したと考えられます。

【今後の展開】

①本研究から、PDIp は膵臓中でエラスターゼ以外にも、トリプシン、キモトリプシン、 α -アミラーゼなど膵臓で作られる様々な消化酵素の元となるタンパク質に作用することが分かりました。よって、これらの消化酵素が正しい立体構造に折り畳まれる過程でも PDIp は働いている可能性があります。今後は、この可能性を調べます。本研究から、栄養素の分解・吸収に重要な、様々な消化酵素が膵臓中で産生される仕組みの一端を解明できると期待しています。

②現代の医療では、膵臓の機能が低下して消化酵素を十分に作れなくなると、消化酵素を補うため、豚の膵臓から調製した消化酵素を投与する治療法がありますが、過敏症による問題が懸念されます。上記の①の研究から、将来的には、膵臓に関連する病気の原因の解明に役立つ知見やヒト由来の消化酵素を微生物や動物細胞の培養によって生産させるための有用な知見が得られると期待しています。

【発表論文】

著者： Takushi Fujimoto, Ori Nakamura, Michiko Saito, Akio Tsuru, Masaki Matsumoto, Kenji Kohno, Kenji Inaba, Hiroshi Kadokura

タイトル： Identification of the physiological substrates of PDIp, a pancreas-specific protein—disulfide family member

雑誌名： Journal of Biological Chemistry

巻：293

号：48

頁：18421-18433

発表年月日：2018年11月30日

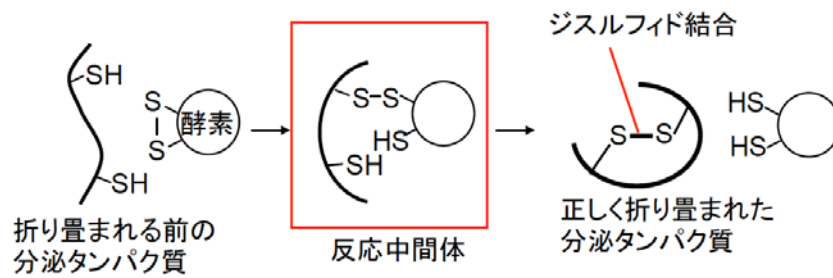


図1 PDI ファミリー酵素による分泌タンパク質の折り畳み反応の促進

折り畳み反応の途上で、PDI ファミリー酵素と分泌タンパク質は分子間のジスルフィド結合でつながった反応中間体を形成する。このことを利用して PDIp が相互作用するタンパク質を膵臓から網羅的に同定した

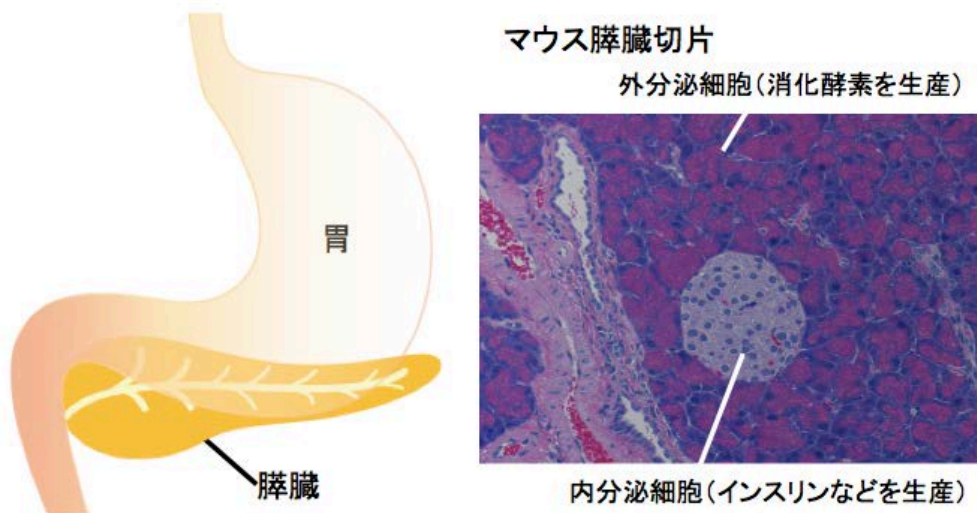


図2 PDIp は消化酵素を生産する膵臓の外分泌細胞の中で働く

