

領域融合レビュー, 3, e011 (2014)
DOI: 10.7875/leading.author.3.e011
2014年10月16日 公開

プロテアソームの作動機構と生理作用の新しい理解

A new understanding of action mechanism, physiological roles and regulation of the proteasome

村田 茂穂
Shigeo Murata

東京大学大学院薬学系研究科 蛋白質代謝学教室

要約

26S プロテアソームは約 2.5 MDa, 66 個のサブユニットから構成される, 真核生物に必須の巨大なタンパク質複合体である。なぜこのように複雑な構造をもっているのか, どのようにタンパク質の分解を実行しているのか, いまだよくわかっていない。しかし近年, クライオ電子顕微鏡を用いた高い分解能での構造解析から大きな進展がみられている。また, プロテアソームの量の多寡とがん, 神経変性, 老化などヒトの疾患とのかかわりについての報告も蓄積してきた。プロテアソームの発現がどのように制御されているのかについてもほとんど未解明であったが, 細胞の内外の栄養環境やストレスに応答してプロテアソームの発現が制御され, 寿命の延長, ストレス応答, 幹細胞の機能維持に重要な役割をはたしていることがわかってきた。

はじめに

細胞は恒常性の維持, ストレス応答, 機能変換などを実行するための手段のひとつとして, 細胞内タンパク質分解を利用している。細胞において役割をおえた(おえるべき)タンパク質や不良なタンパク質の大半は, 分解の目印としてユビキチンを付加されたのち, プロテアソームとよばれる巨大なタンパク質複合体により短いペプチド断片にまで消化される。ユビキチン-プロテアソーム系は真核生物において必須の細胞内タンパク質分解系であるが, その要点は, 標的となるタンパク質の幅広さと高い選択性の両立, および, 無秩序ではなく厳密に制御された分解にある。筆者が大学院生だった 1990 年代後半はユビキチン-プロテアソーム系の具体的な重要性がわかりはじめたばかりのころであったが, そののちの研究の進展はめざましく, 細

胞周期, 遺伝子発現, シグナル伝達をはじめとした幅広い生命現象において必須の制御機構としてはたらいっていることが明らかになり, 近年の生命科学を理解するうえで必須の研究分野である。

ユビキチン-プロテアソーム系においていまだ大きな謎につつまれているのが, タンパク質の分解を実行するプロテアソームである。プロテアソームは多数のサブユニットから構築されるきわめて複雑なタンパク質複合体であるが, ここ数年の構造解析の進展により, その詳細な作動機構がわかってきた。また, プロテアソームの機能と老化との関連や, その発現の新しい制御機構も明らかになりつつある。このレビューでは, とくにここ数年で明らかになってきたプロテアソームの作動機構と生理作用を中心に解説する。

1. プロテアソームの基礎知識

プロテアソームは酵母から哺乳類にいたるすべての真核生物において高度に保存された構造をもつタンパク質複合体である。ユビキチン化されたタンパク質を分解するのは, プロテアーゼ活性をもつ 20S コア粒子 (CP, あるいは, 20S プロテアソームともよぶ) の両端または片側に 19S 制御粒子 (RP ともよぶ) が会合した 26S プロテアソームである。これは, 長さ 44 nm, 最大直径 20 nm, 2.5 MDa にも及ぶ巨大な酵素である (図 1)。

20S コア粒子は X 線結晶構造解析がなされており, 構造の詳細が判明している¹⁾。7 種類のサブユニット $\alpha 1 \sim \alpha 7$ からなる α リングと, 7 種類のサブユニット $\beta 1 \sim \beta 7$ からなる β リングが $\alpha \beta \beta \alpha$ の順に積み重なった中空の樽状の形状をしており, β リングの内壁にプロテアーゼ活性中心が露出している。 $\beta 1, \beta 2, \beta 5$ のみがプロテアーゼ活性をもつ。脊椎動物においては, 酵母から保存されて

いる構成的に発現するタイプの 20S コア粒子のほか、インターフェロン γ に反応して発現が誘導される $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ というプロテアーゼ活性をもつ異なるサブユニットが組み込まれた免疫型 20S コア粒子、この免疫型 20S コア粒子からさらに $\beta 5i$ が胸腺皮質に特異的に発現するサブユニット $\beta 5t$ と置換した胸腺型 20S コア粒子が存在し、これらは MHC クラス I を介した免疫応答においてきわめて重要なはたらきをしていることが知られているが、詳細についてはほかにゆずる²⁾。

20S コア粒子が単独のときには入り口となる α リングの中央は閉じており、開口しても 13Å の狭いチャネルとなり、解きほぐされた (アンフォールディングされた) タンパク質のみが通過できる。通過した基質タンパク質は α リングと β リングから形成される antechamber (控えの間) とよばれる空間において解きほぐされた状態で維持され、さらに、2 つの β リングにかこまれた catalytic chamber (触媒空間) に移動して分解される。

20S コア粒子における分解のために基質タンパク質の前処理を行うのが 19S 制御粒子である。ATPase 活性をもつ 6 種類のサブユニット Rpt1~Rpt6 からなる ATPase リングに、ATPase 活性をもたない 13 種類のサブユニッ

ト Rpn1~Rpn3, Rpn5~Rpn13, Rpn15 が会合したタンパク質複合体であり、生化学的な性質やその形成機構から、Rpt1~Rpt6, Rpn1, Rpn2, Rpn13 からなる基底部 (base) と、Rpn3, Rpn5~Rpn9, Rpn11, Rpn12, Rpn15 からなる蓋部 (lid) の 2 つに区分することができる³⁾ (図 1)。基底部と蓋部は独立して形成されたのちに会合して 19S 制御粒子ができあがるが、Rpn10 は完成した 19S 制御粒子に会合する。

これまで生化学的および遺伝学的な解析から、いくつかのサブユニットについてはユビキチン化されたタンパク質の分解における役割が知られている。ATPase サブユニットは基質タンパク質の解きほぐし、20S コア粒子の α リングの開口、20S コア粒子への基質タンパク質の送り込みを行う。Rpn10 および Rpn13 はユビキチン鎖を直接に捕捉する“ユビキチン受容体”としてはたらく。Rpn11 は Zn^{2+} メタロプロテアーゼであり、ユビキチン鎖の根元を切断することにより基質タンパク質からユビキチン鎖を切り離し分解を促進する。

これらの多数のサブユニットがどのように有機的に連携してユビキチン化されたタンパク質の分解を可能にしているのかを理解するため、19S 制御粒子の構造解析がな

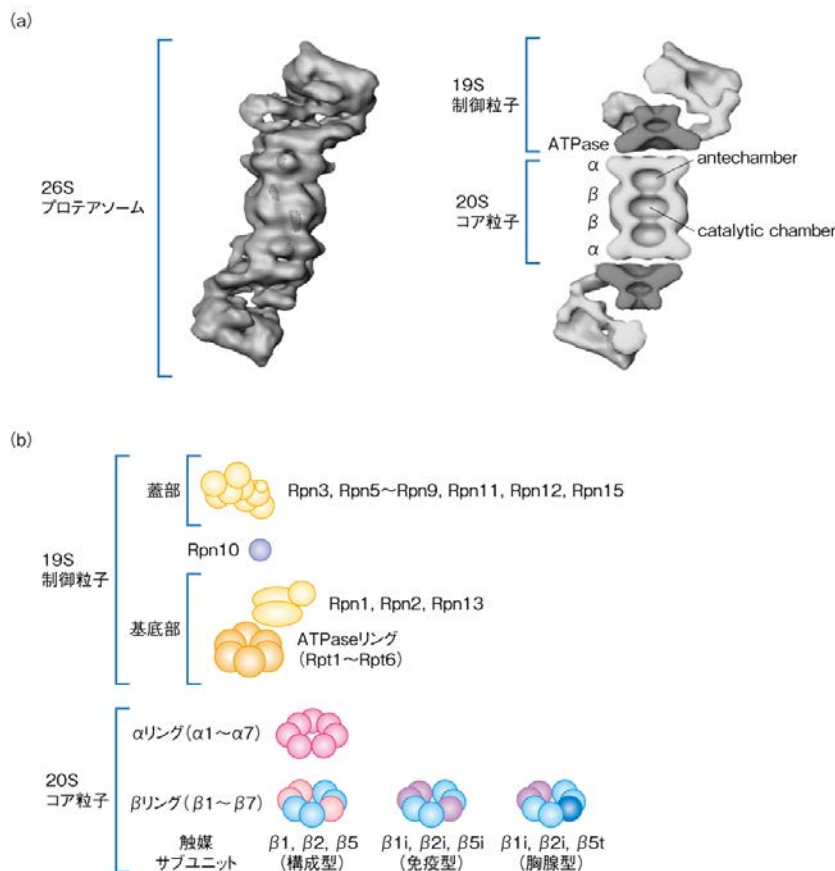


図 1 プロテアソームの構成と構造

(a) 26S プロテアソームの電子顕微鏡像とそのカットモデル。ドイツ Max-Planck Institute of Biochemistry の Wolfgang Baumeister 博士より供与。

(b) サブユニットの構成。

がらく待望されていたが、構造の複雑さ、不均一さから困難をきわめていた。しかし、ここ数年のクライオ電子顕微鏡による単粒子解析技術の進歩により、26S プロテアソーム全体の高次構造が 7~10Å の高分解能で明らかになり、プロテアソームの作動機構の理解が飛躍的に進展した^{4,11)}。

2. プロテアソームの作動の分子機構

クライオ電子顕微鏡による解析を中心に、個別のサブユニットや類似したタンパク質の結晶構造解析の情報やこれまでの生化学的な解析の蓄積を参照することにより、19S 制御粒子におけるおのおののサブユニットの配置や活性中心の位置、ATP 加水分解にともなう構造変化をはじめ、19S 制御粒子が非常に巧妙なしくみでユビキチン化されたタンパク質を処理している機構がわかってきた。

ATPase サブユニットは Rpt1-Rpt2-Rpt6-Rpt3-Rpt4-Rpt5 の順にならんでリング構造を形成し、その中央にはチャンネルが形成される。ほかの AAA⁺アンフォールダーゼと同様に、基質を捕捉する Ar-Φ ループ (Ar-Φ: aromatic hydrophobic, 芳香性および疎水性) とよばれる疎水性に富んだ領域がおのおののサブユニットからチャンネルへむけて突き出している。ATP の存在下 (基質タンパク質と会合していない状態を模倣) では、Ar-Φ ループは Rpt3

を頂点、Rpt2 を底とし、Rpt6 がそのあいだを連結するらせん階段状に配列し、さらに、ATPase リングのチャンネルの軸は 20S コア粒子のチャンネルの軸から傾いている。しかし、非加水分解性の ATP アナログである ATP γ S の存在下 (基質タンパク質と会合した状態を模倣) では、おのおのの Ar-Φ ループはほぼ同一の平面にそろい、ATPase リングのチャンネルの軸と 20S コア粒子のチャンネルの軸が一致する⁵⁾ (図 2)。このように、ATP の加水分解サイクルにともなう立体構造の変化により、基質タンパク質の高次構造を解きほぐしながら 20S コア粒子へと送り込んでいる機構がわかってきた。

ATPase リングは 20S コア粒子の α リングと直接に会合する。Rpt2, Rpt3, Rpt5 の C 末端に存在する HbYX 配列 (疎水性アミノ酸-チロシン-任意のアミノ酸からなる配列) が α サブユニットのあいだにあるポケットに突き刺さることにより、 α リングに構造変化が起こり開口し、解きほぐされた基質タンパク質が 20S コア粒子へと送り込まれる。

ユビキチン化されたタンパク質の捕捉は Rpn10 および Rpn13 により行われる。これら“ユビキチン受容体”はアンテナのように 19S 制御粒子の頂上の周辺部に互いに 90Å 離れて位置している (図 3)。これまでの生化学的な

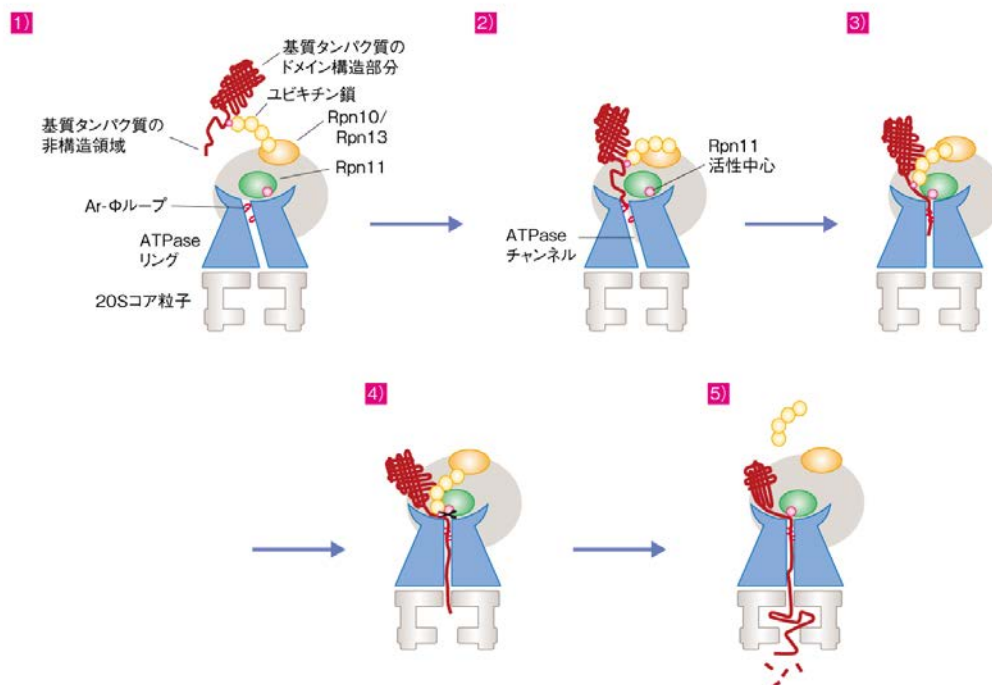


図 2 ユビキチン化されたタンパク質の分解におけるプロテアソームの作動機構

1) プロテアソームのユビキチン受容体 Rpn10 および Rpn13 により基質タンパク質のユビキチン鎖が捕捉される。2) 基質タンパク質のもつ非構造領域が ATPase チャンネルの Ar-Φ ループにより捕捉され分解へと運命づけられる。3) 基質タンパク質の解きほぐしがはじまると、19S 制御粒子は構造変化を起こし、ATPase チャンネルと 20S コア粒子への通路が直線上に配列するとともに、脱ユビキチン化酵素 Rpn11 の活性中心が ATPase チャンネルの直上に配置される。4) 基質タンパク質の解きほぐしが進行しユビキチン鎖の根元が Rpn11 活性中心の付近まで移動すると、ユビキチン鎖が切り離される。5) さらに解きほぐしが進行し、基質タンパク質は 20S コア粒子へと送り込まれて分解される。

解析から、4つ以上のユビキチンが連なったテトラユビキチン鎖で修飾されていることが基質タンパク質がプロテアソームにより効率的に分解されるために必要であることが知られている。2つのユビキチン受容体の距離はちょうどテトラユビキチン鎖の長さに相当することから、それらの協調により高い親和性でユビキチン鎖を捕捉している可能性が示唆されている。

しかし、ユビキチン鎖のみではプロテアソームによる分解には十分ではなく、基質タンパク質が30アミノ酸残基以上の長さの非構造領域をもつことが必要であり、この領域がATPaseチャンネルに入り込みAr-Φループにより捕捉されることにより、はじめて分解への運命が決定づけられる¹²⁾。

脱ユビキチン化酵素 Rpn11 はユビキチン鎖の根元を基質タンパク質から切り離す。このはたらきはユビキチン化されたタンパク質の分解に必須の過程であるが、ATP の

加水分解に依存的に基質タンパク質の解きほぐしが開始されてはじめて実行される。すなわち、ATPase リングの立体構造の変化は 19S 制御粒子の全体の構造変化をとめない、基質タンパク質の解きほぐしのときには、あたかも解きほぐされつつあるポリペプチド鎖を間近で見張るかのように、Rpn11 の活性中心は ATPase リングのチャンネルの入り口の 10Å直上に位置するようになる^{7,9,10)}。基質タンパク質がユビキチン化されている部位まで解きほぐしが進み、チャンネルの入り口の付近にユビキチン鎖がくると、これを切り離すことによりユビキチン鎖が ATPase チャンネルに詰まることをふせいでいる (図 2)。実際に、N末端のみがユビキチン化される球状タンパク質の C 末端に解きほぐしの開始を導く非構造領域を融合させ、この球状タンパク質に Rpn11 活性を欠失させたプロテアソームを作用させると、C 末端から解きほぐしがはじまり、ひき続いて球状タンパク質の解きほぐしまでは起こるが、N 末

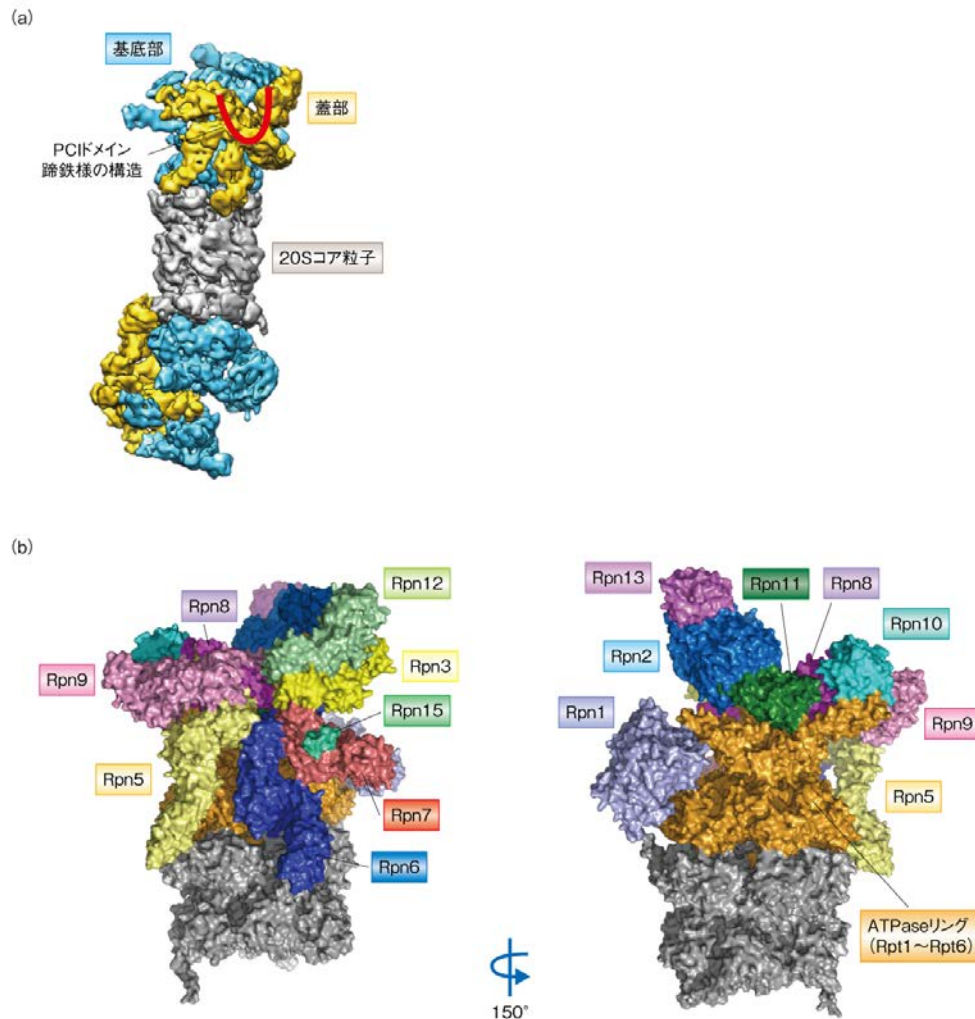


図 3 26S プロテアソームの高解像度の電子顕微鏡像

(a) 蓋部 (黄色) は基部 (水色) の側面に張りつき、さらに一部は 20S コア粒子 (灰色) とも結合する (EMDB ID : 1992)。

(b) 19S 制御粒子における ATPase リングとサブユニットの配置 (PDB ID : 4CR3)。とくに、基質タンパク質を処理しているときには Rpn11 は ATPase リングの直上に位置する。ユビキチン受容体である Rpn10 および Rpn13 は 19S 制御粒子の周辺部に位置する。

端のユビキチン鎖のところでききほぐしは停止する⁷⁾。

脱ユビキチン化酵素 Rpn11 の活性中心とユビキチン受容体 Rpn10 および Rpn13 のユビキチン鎖結合領域との距離はそれぞれ 75 Å であり、テトラユビキチン鎖であれば Rpn10 あるいは Rpn13 がユビキチン鎖を捕捉しつつ Rpn11 が脱ユビキチン化を行うことのできる距離である。このことは、テトラユビキチン鎖が効率的な分解シグナルとなる機構と関係しているかもしれない。

基底部は Rpt1~Rpt6 の ATPase リングに Rpn1, Rpn2, Rpn13 が会合して形成される。Rpn1 および Rpn2 はユビキチン化されたタンパク質の分解を制御するタンパク質の足場としてはたらく。Rpn1 はユビキチン様ドメインとの結合能をもち、ユビキチン化されたタンパク質を 26S プロテアソームまでリクルートする hHR23 や Ubiquilin といったシャトルタンパク質や、ユビキチン鎖をトリミングして分解を遅延させる脱ユビキチン化酵素 Usp14/Ubp6, プロテアソームにおいてユビキチン鎖の伸長反応を行うユビキチンリガーゼなどをリクルートする。一方、Rpn2 はユビキチン受容体 Rpn13 の結合サブユニットとしてはたらくており、この Rpn2 および Rpn13 は 26S プロテアソームの頂上の周辺部に位置している^{4,11)}。

(図 3)。Rpn13 にはさらに脱ユビキチン化酵素である UCH37 が会合する。このように、基底部においてはユビキチン化されたタンパク質をリクルートしつつ、そのユビキチン鎖の長さを制御するタンパク質が会合する、いわばタンパク質分解の制御の場となっている可能性が考えられる。

蓋部という名称は、プロテアソームの低解像度の電子顕微鏡像において“ふた”のようにみえる部分に相当するだろうとの予想から命名されたものが、クライオ電子顕微鏡により判明した蓋部の構造は意外なものであった。Rpn9, Rpn5, Rpn6, Rpn7, Rpn3, Rpn12 は、互いの C 末端側の PCI ドメインを介して順に蹄鉄状に会合し、そこからのおおの N 末端側を指を広げたように放射状に伸ばしている⁶⁾ (図 3)。MPN ドメインをもつ Rpn8 と Rpn11 はヘテロ二量体を形成し、蓋部を構成するサブユニットの C 末端に存在するヘリックスを束ねるようにして会合している。蓋部と基底部はおのおの独立して形成されたのちに会合して 19S 制御粒子になるが、蓋部は基底部にふたのようにおおいかがさるのではなく、基底部の側面をおおるように張りつき、Rpn11 を適切な場所に配置するとともに、Rpn5 および Rpn6 の N 末端が 20S コア粒子の $\alpha 1$ および $\alpha 2$ と直接に相互作用することにより、20S コア粒子と 19S 制御粒子との結合を補強していることが明らかになった^{4,11)} (図 3)。

以上のように、おのおのサブユニットのはたらきの分子機構が明らかになりつつあり、今後、プロテアソームを標的とした創薬や、機能未知の多くのサブユニットの役割について、大きなヒントをあたえるきっかけになると考え

られる。今後は、さらに詳細な構造を明らかにするとともに、プロテアソームと会合するタンパク質の作用機構を明らかにするため、それらと 26S プロテアソームとの複合体の構造の解明が待たれる。

3. プロテアソームと老化および寿命

プロテアソームの作動機構は明らかになりつつあるが、プロテアソームの量や機能がどのように制御されているのかについてはほとんど解明されていないのが実情である。しかし、プロテアソームの量や活性の増減と老化あるいはヒトの疾患との関連が知られはじめ、プロテアソームの量的な制御と生理および疾患との関連が重要になってきた。

老化において観察される現象として、ゲノムの不安定性、エピジェネティックな変化、栄養感知の異常、ミトコンドリアの機能異常、幹細胞の機能低下などがあるが、異常タンパク質の蓄積も老化の主要な特徴のひとつである。実際に、タンパク質の凝集は神経変性疾患をはじめとした加齢に伴う多くの疾患に観察される¹³⁾。

いうまでもなく、プロテアソームは細胞におけるタンパク質の恒常性の維持において主要な役割をはたしており、老化への関与は十分に予想される場所である。実際に、さまざまな生物においてプロテアソームの機能が加齢とともに低下することが観察されており、プロテアソームの機能を人為的に低下させると、加齢ともなうタンパク質の凝集の出現頻度が上昇し、神経変性や代謝異常を生じることも報告されている¹⁴⁾。一方、げっ歯類としては異例に長い寿命をもつハダカデバネズミは高いプロテアソーム活性を持つこと、ヒトに由来する健康長寿の線維芽細胞が若年者なみのプロテアソーム活性を保持していることなどから、プロテアソームの機能と老化との関連性は強く示唆される¹⁵⁾。それでは、人為的にプロテアソームの活性を上昇させれば寿命は延びるのだろうか？ これまで実際に、出芽酵母、線虫、ショウジョウバエ、ヒト細胞において、この推測が正しいことを支持する結果が得られている。

出芽酵母では転写因子 Rpn4 (もともと、プロテアソームのサブユニットと誤認されて同定されたので、この名がついている) がプロテアソームのすべてのサブユニットの遺伝子を一齐に転写することが知られているが、この Rpn4 を増加させた出芽酵母では分裂寿命が 1.5 倍以上も延長する¹⁶⁾。Rpn4 はプロテアソームの遺伝子のみならずほかの遺伝子の転写も亢進するが、寿命延長へ関与の知られる Tor あるいは Sir2 や抗ストレス転写因子である Yap1 は Rpn4 の増加による寿命延長には関与しておらず、プロテアソームの量の増大が必要十分であることが示されている。

多細胞生物においてはプロテアソームの増大が寿命を延長させることが直接的に示されている。ショウジョウバ

エでは Rpn11 を単独で過剰に発現させることによりプロテアソーム活性が上昇し、その結果、寿命が延長するとともに加齢にともなう変性タンパク質の蓄積による神経細胞死も抑制された¹⁷⁾。プロテアソームは 33 種類のサブユニットが集合して形成されているので、単一のサブユニットの過剰発現によりプロテアソーム活性が上昇することは不思議であるが、少なくとも、Rpn11 がプロテアソームの外ではたらいっているという報告はなく、プロテアソームの形成をなんらかの機構により促進していると推測される。プロテアソームの単一サブユニットの過剰発現によるプロテアソーム活性の増加と寿命延長は、線虫においても観察されている。線虫では FOXO ファミリー転写因子である DAF-16 に依存的な Rpn6 の発現上昇が寿命延長にはたらいしていることが示された。Rpn6 単独の過剰発現でもプロテアソーム活性が上昇して異常タンパク質の分解が亢進し、酸化ストレスや熱ストレスなどタンパク質ストレスのもとでの寿命延長をもたらす¹⁸⁾。

ショウジョウバエや線虫において、なぜ単一のサブユニットの過剰発現がプロテアソームの機能を上昇させるのか、その機構は不明であるが、単一のサブユニットやプロテアソーム関連遺伝子の高発現によりプロテアソームの機能が亢進する例はほかにも知られている。マウスの受精初期胚では 1 細胞期から 4 細胞期の期間だけに ZPAC というプロテアソーム形成シャペロンを発現してプロテアソームを増産することによりタンパク質レベルでの母性-胚性転移を促進していること¹⁹⁾、ヒトの骨髄間質細胞で

は $\beta 5$ を過剰発現させることによりプロテアソーム活性を上昇させ多分化能を維持していること²⁰⁾、ES 細胞および iPS 細胞は多能性を維持するため FOXO4 を介して Rpn6 の発現を上昇させていること²¹⁾、が報告されており、細胞や組織の性質によりプロテアソームの形成における律段階など、プロテアソームの増産の戦略が異なっているのかもしれない。

4. プロテアソームの発現の制御機構

プロテアソームが正常に組み立てられて機能するためには、33 種類すべてのサブユニット、および、それらの集合を助ける特異的な分子シャペロンが協調して発現する必要がある。

さきに述べたとおり、出芽酵母では Rpn4 がプロテアソームの遺伝子の転写を活性化することが知られている。Rpn4 はプロテアソームの機能が正常のときはユビキチン化に依存的および非依存的な経路によりたえず分解されているが、プロテアソームの機能が低下すると分解をまぬがれ、PACE 配列を上流にもつプロテアソーム関連遺伝子の転写を一斉に誘導する。Rpn4 を欠損した出芽酵母では野生型と比べプロテアソームの量がいちじるしく低下することから、Rpn4 は誘導性の発現とともに基礎発現量を制御していることがわかる。

高等動物においても同様のフィードバック機構の存在することが知られている。1 次配列において Rpn4 と相同なタンパク質はみつかっていないが、酸化ストレス応答に

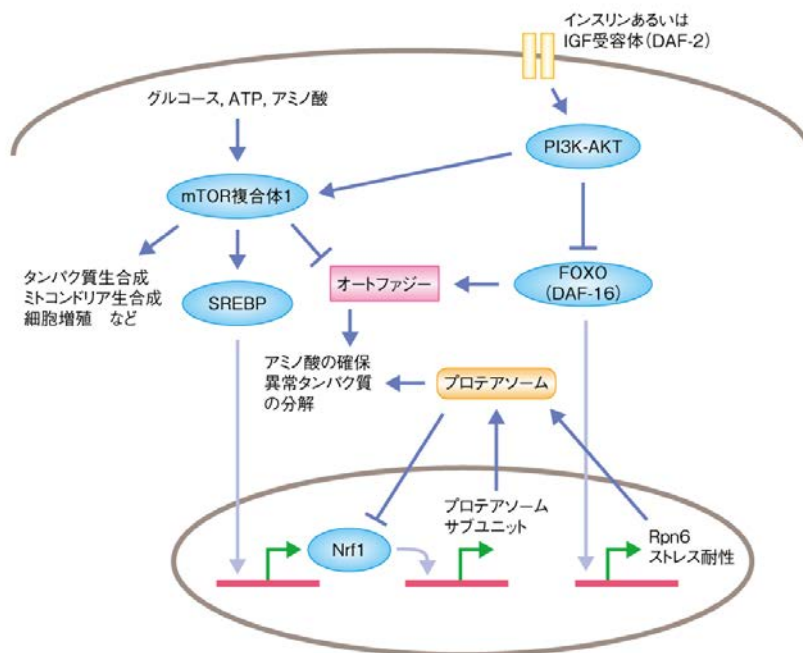


図 4 プロテアソームの発現制御と栄養応答およびストレス応答

プロテアソームの発現は、mTOR 複合体 1 シグナル伝達経路による増殖シグナル応答としても、FOXO シグナル伝達経路によるストレス耐性応答としても、いずれでも誘導される。また、プロテアソームの機能が低下した際には Nrf1 の蓄積および活性化によっても誘導される。しかし、プロテアソームの基礎発現量を制御するしくみはいまだ不明である。

はたらく転写活性化タンパク質として知られる Nrf1 は、プロテアソームの遺伝子の誘導性の発現にもはたらいっていることが明らかになった²²⁾。Nrf1 は N 末端側に膜貫通領域をもつ小胞体膜タンパク質であり、通常は小胞体関連分解により恒常的にプロテアソームにより分解され転写活性を発揮しないようにしている。しかし、プロテアソームの機能が低下したり、ある種のストレスに細胞がさらされたりすると、Nrf1 の分解は阻害されプロセッシングをうけて核へと移行することによりプロテアソームの遺伝子の発現を誘導する²³⁾。この Nrf1 のプロセッシング酵素はプロテアソーム自体であるとされている²⁴⁾。Nrf1 を欠損した細胞ではプロテアソームの基礎発現量はほぼ正常であり、Nrf1 は主としてプロテアソームの量のフィードバック制御にはたらいっており、基礎的な発現を制御するほかの分子機構の存在が考えられる。しかし、ニューロンに特異的な Nrf1 ノックアウトマウスはプロテアソームの機能の低下を介して変性タンパク質の蓄積と神経変性をひき起こすことから、Nrf1 によるプロテアソームの遺伝子の転写制御は個体の恒常性の維持において重要なはたらきをしていることがわかる^{25,26)}。近年、抗がん剤としてプロテアソーム阻害剤が使用されているが、腫瘍細胞は Nrf1 の活性化によるフィードバック機構によりプロテアソームの発現を亢進させることがプロテアソーム阻害剤に対する耐性の原因になっていると考えられている。Nrf1 の誘導性の発現を同時に制御することができれば、この耐性機構の克服が可能になると期待される。

細胞環境、とくに、栄養状態に応答したプロテアソームの発現の制御機構についてもわかりはじめた。mTOR 複合体 1 は富栄養の状態や成長因子に応答して活性化され、タンパク質や脂質の生合成をはじめとした代謝の同化作用を促進し細胞の成長や増殖を正に制御するマスター制御タンパク質として知られている。しかし同時に、プロテアソームを増加させることによりタンパク質分解を促進し、細胞におけるアミノ酸プールを増大させていることがわかった²⁷⁾。mTOR 複合体 1 が脂質生合成のマスター転写因子である SREBP を活性化させることは以前より知られていたが、SREBP は Nrf1 の転写を亢進させることによりプロテアソームの遺伝子の転写を上昇させている (図 4)。プロテアソームによるタンパク質分解が細胞におけるアミノ酸プールの維持に重要であることは以前から示されているが^{28,29)}、飢餓の際にアミノ酸の確保を行うタンパク質分解系であるオートファジーが mTOR 複合体 1 により抑制されることを考えると、細胞における 2 大分解系の使い分けの対比が興味深い。

PI3K-AKT シグナル伝達経路により正に制御される mTOR 複合体 1 とは反対に、FOXO は PI3K-AKT シグナル伝達経路により負に制御される転写因子であり、栄養飢餓やさまざまなストレスに対応して恒常性の維持にはたらく、オートファジーをはじめとした異化作用やタンパク

質恒常性の維持機構を発動させる。さきに述べたように、線虫および ES 細胞では DAF16 あるいは FOXO4 を介して Rpn6 の転写を上昇させることによりプロテアソームの機能を亢進させ、異常タンパク質の出現による毒性を軽減させている^{18,21)} (図 4)。

mTOR 複合体 1 は老化の促進および細胞増殖の促進に作用し、FOXO はその逆に作用するにもかかわらず、どちらもプロテアソームの発現を誘導することはいっけん奇異にうつる。しかし、プロテアソームがユビキチン化の目印にしたがってどのタンパク質を分解するかが細胞機能を制御する要点であると考え、いずれの場合も、プロテアソームとともに誘導されているユビキチンリガーゼとその特異的な基質タンパク質が生理作用の理解の鍵になるであろう。筋萎縮の際に FOXO3 により誘導されるユビキチンリガーゼ MuRF1 や MAFbx/atrogen-1 などが好例である。富栄養のときおよび細胞増殖のときに活発に分解されてアミノ酸の供給源となるタンパク質とはいったい何であるのか、興味深い問題である。

おわりに

プロテアソームについて、ここ数年で大きな進展をみせた領域にしぼり解説した。そのほかの重要なトピックスであるプロテアソームの多様性、プロテアソームと会合してプロテアソームの機能を制御するタンパク質、プロテアソームの分子集合については、ほかを参照されたい³⁰⁾。

20S コア粒子の活性部位を阻害するプロテアソーム阻害剤が多発性骨髄腫に対する効果的な抗がん剤として用いられるようになって以来、プロテアソームは有望な創薬標的と考えられるようになってきた。プロテアソームの動作機構が明らかになるにつれて、新しい作用点をもつ阻害剤も開発されつつある。たとえば、Rpn13 によるユビキチン鎖の認識に対する阻害剤が抗がん剤として有望であることも報告されている³¹⁾。その反対に、プロテアソーム会合型の脱ユビキチン化酵素 Usp14 を阻害してプロテアソームによる分解を亢進させることにより、神経変性疾患の治療として細胞における異常タンパク質を分解しようとする試みもなされている³²⁾。

発見から 25 年を経過するいまなお、プロテアソームの新しい生理作用が発見されつづけており、その関与する領域は拡大をつづけている。今後も、老化、がん、免疫をキーワードに、プロテアソームの重要性はいっそう増してくると考えられる。

文献

1) Borissenko, L. & Groll, M.: 20S proteasome and its inhibitors: crystallographic knowledge for drug development. *Chem. Rev.*, 107, 687-717 (2007)

- 2) Kniepert, A. & Groettrup, M.: The unique functions of tissue-specific proteasomes. *Trends Biochem. Sci.*, 39, 17-24 (2014)
- 3) Murata, S., Yashiroda, H. & Tanaka, K.: Molecular mechanisms of proteasome assembly. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 10, 104-115 (2009)
- 4) Beck, F., Unverdorben, P., Bohn, S. et al.: Near-atomic resolution structural model of the yeast 26S proteasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 14870-14875 (2012)
- 5) Beckwith, R., Estrin, E., Worden, E. J. et al.: Reconstitution of the 26S proteasome reveals functional asymmetries in its AAA⁺ unfoldase. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 20, 1164-1172 (2013)
- 6) Estrin, E., Lopez-Blanco, J. R., Chacon, P. et al.: Formation of an intricate helical bundle dictates the assembly of the 26S proteasome lid. *Structure*, 21, 1624-1635 (2013)
- 7) Matyskiela, M. E., Lander, G. C. & Martin, A.: Conformational switching of the 26S proteasome enables substrate degradation. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 20, 781-788 (2013)
- 8) Pathare, G. R., Nagy, I., Sledz, P. et al.: Crystal structure of the proteasomal deubiquitylation module Rpn8-Rpn11. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111, 2984-2989 (2014)
- 9) Unverdorben, P., Beck, F., Sledz, P. et al.: Deep classification of a large cryo-EM dataset defines the conformational landscape of the 26S proteasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111, 5544-5549 (2014)
- 10) Worden, E. J., Padovani, C. & Martin, A.: Structure of the Rpn11-Rpn8 dimer reveals mechanisms of substrate deubiquitination during proteasomal degradation. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 21, 220-227 (2014)
- 11) Lander, G. C., Estrin, E., Matyskiela, M. E. et al.: Complete subunit architecture of the proteasome regulatory particle. *Nature*, 482, 186-191 (2012)
- 12) Bhattacharyya, S., Yu, H., Mim, C. et al.: Regulated protein turnover: snapshots of the proteasome in action. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 15, 122-133 (2014)
- 13) Lopez-Otin, C., Blasco, M. A., Partridge, L. et al.: The hallmarks of aging. *Cell*, 153, 1194-217 (2013)
- 14) Tomaru, U., Takahashi, S., Ishizu, A. et al.: Decreased proteasomal activity causes age-related phenotypes and promotes the development of metabolic abnormalities. *Am. J. Pathol.*, 180, 963-972 (2012)
- 15) Rodriguez, K. A., Edrey, Y. H., Osmulski, P. et al.: Altered composition of liver proteasome assemblies contributes to enhanced proteasome activity in the exceptionally long-lived naked mole-rat. *PLoS One*, 7, e35890 (2012)
- 16) Kruegel, U., Robison, B., Dange, T. et al.: Elevated proteasome capacity extends replicative lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Genet.*, 7, e1002253 (2011)
- 17) Tonoki, A., Kuranaga, E., Tomioka, T. et al.: Genetic evidence linking age-dependent attenuation of the 26S proteasome with the aging process. *Mol. Cell. Biol.*, 29, 1095-1106 (2009)
- 18) Vilchez, D., Morantte, I., Liu, Z. et al.: RPN-6 determines *C. elegans* longevity under proteotoxic stress conditions. *Nature*, 489, 263-268 (2012)
- 19) Shin, S.-W., Shimizu, N., Tokoro, M. et al.: Mouse zygote-specific proteasome assembly chaperone important for maternal-to-zygotic transition. *Biol. Open*, 2, 170-182 (2013)
- 20) Lu, L., Song, H.-F., Wei, J.-L. et al.: Ameliorating replicative senescence of human bone marrow stromal cells by PSMB5 overexpression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 443, 1182-1188 (2014)
- 21) Vilchez, D., Boyer, L., Morantte, I. et al.: Increased proteasome activity in human embryonic stem cells is regulated by PSMD11. *Nature*, 489, 304-308 (2012)
- 22) Radhakrishnan, S. K., Lee, C. S., Young, P. et al.: Transcription factor Nrf1 mediates the proteasome recovery pathway after proteasome inhibition in mammalian cells. *Mol. Cell*, 38, 17-28 (2011)
- 23) Steffen, J., Seeger, M., Koch, A. et al.: Proteasomal degradation is transcriptionally controlled by TCF11 via an ERAD-dependent feedback loop. *Mol. Cell*, 40, 147-158 (2010)
- 24) Sha, Z. & Goldberg, A. L.: Proteasome-mediated processing of Nrf1 is essential for coordinate induction of all proteasome subunits and p97. *Curr. Biol.*, 24, 1-11 (2014)
- 25) Lee, C. S., Lee, C., Hu, T. et al.: Loss of nuclear factor E2-related factor 1 in the brain leads to dysregulation of proteasome gene expression and neurodegeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 8408-8413 (2011)
- 26) Kobayashi, A., Tsukide, T., Miyasaka, T. et al.: Central nervous system-specific deletion of transcription factor Nrf1 causes progressive motor neuronal dysfunction. *Genes Cells*, 16, 692-703 (2011)
- 27) Kwiatkowski, D. J., Manning, B. D., Zhang, Y. et al.: Coordinated regulation of protein synthesis and degradation by mTORC1. *Nature*, 513, 440-443 (2014)
- 28) Vabulas, R. M. & Hartl, F. U.: Protein synthesis

upon acute nutrient restriction relies on proteasome function. *Science*, 310, 1960-1963 (2005)

29) Suraweera, A., Mu, C., Hanssum, A. et al.: Failure of amino acid homeostasis causes cell death following proteasome inhibition. *Mol. Cell*, 48, 242-253 (2012)

30) 村田茂穂, 反町洋之 (編): タンパク質分解系による生体制御. *実験医学*, 29, 1830-2072 (2011)

31) Anchoori, R. K., Karanam, B., Peng, S. et al.: A bis-benzylidene piperidone targeting proteasome ubiquitin receptor RPN13/ADRM1 as a therapy for cancer. *Cancer Cell*, 24, 791-805 (2013)

32) Lee, B. -H., Lee, M. J., Park, S. et al.: Enhancement of proteasome activity by a small-molecule inhibitor of USP14. *Nature*, 467, 179-184 (2010)

著者プロフィール

村田 茂穂 (Shigeo Murata)

略歴: 2000年 東京大学大学院医学系研究科 修了, 東京都臨床医学総合研究所 研究員, 科学技術振興機構 さきがけ研究員を経て, 2007年より東京大学大学院薬学系研究科 教授.

研究テーマ: プロテアソームの機能の異常と疾患, ユビキチン-プロテアソーム系によるタンパク質恒常性の維持機構, 胸腺プロテアソームによる T 細胞の選択機構.

抱負: プロテアソームの機能を健全に保つことによる健康長寿は可能か? に挑戦したい.

研究室 URL: <http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~tanpaku/>