

最近のトピックス

アルカリホスファターゼの翻訳後修飾機構

新潟大学歯学部口腔生化学教室
織田 公光

アルカリホスファターゼ (ALP) は肝臓, 腎臓, 骨に広く局在する臓器非特異的な肝/腎/骨型, 小腸に局在する小腸型, そして胎盤に局在する胎盤型の少なくとも3種類のアイソザイムが知られている。特に骨組織に存在する ALP は骨の形成に密接に関係していることが以前から知られて来たが, 生理的 pH からアルカリ側に大きくずれた至適 pH (10.5-11.0) を有する ALP が本来どのような働きをしているのか (作用する基質は何か), どのような機序で骨の形成に関与しているかは想像の域をでない。また骨の形成が認められていない肝臓や腎臓などに存在している同じ型のアイソザイムにどのような生理的意義があるのか全く不明なのが現状である。

一方, 1980年代の後半から ALP の分子自体の研究は大きく前進した。3種のアイソザイムの cDNA およびその遺伝子がつぎつぎにクローン化され, また, ALP は翻訳後に特殊な修飾をうけることが明らかとなった。筆者は以前医学部に在籍していた関係で, 胎盤型 ALP の生合成の研究に携わる機会があったのでこの場をお借りして紹介したい。

ALP は他の多くの膜結合型蛋白質がその疎水性のアミノ酸残基からなる膜結合領域を介して膜に結合するのに対して, リン脂質の一種のホスファチジルイノシトール (PI) を介して膜に結合している。これは PI に特異的なホスホリパーゼ C で細胞をインキュベーションすると ALP が膜から離れてくる事実から知られた。その後, 精製 ALP の化学分析や培養細胞での生合成の実験から, 図1に示すように成熟 ALP ではエタノールアミン, 少糖, PI からなるグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI, glycosylphosphatidylinositol) と総称される構造が C-末端の484番目のアスパラギン酸に結合していることが確定した。このように成熟 ALP は形質膜を貫通するのではなく, 脂質二重層の外側の層に GPI を介してアンカーされており, 以前に想定されていた酵素反応で遊離したリン酸を同時に膜の内側に輸送する機能は ALP 分子自体には考えにくい。GPI アンカー型膜蛋白質には他に, 肝/腎/骨型 ALP, acetylcholinesterase, Thy-1, CD14, CD16 (FcγRIII), N-CAM, CD55 (DAF), CEA など既に100種以上知られている。

GPI アンカー型膜蛋白質では当初成熟蛋白質の C 末端側に延長ペプチドを有するプロ型として合成後, 延長ペプチドの切断と同時に露出した成熟蛋白質の C 末端に位置するアミノ酸に前以て形成されていた GPI のエタノールアミンが結合することで GPI 化が起きると予測されていた。筆者は分泌蛋白質であるラットの $\alpha 2u$ -グロブリンと ALP の延長ペプチドからなるキメラ蛋白質をコードする cDNA を遺伝子工学的な手法をもちいて作製し, COS-1細胞にキメラ蛋白質を発現させたところ, $\alpha 2u$ -グロブリンはもはや分泌されずに細胞表面に GPI を介して結合することを見いだした¹⁾。このことは, 本来可溶性の蛋白質が延長ペプチドがつくことにより GPI アンカー型の膜蛋白質になることを示しており, 延長ペプチドは GPI アンカーのためのいわばシグナルとして機能することを意味している。さらに, GPI の結合部位である

アスパラギン酸をトリプトファンに変えた突然変異型のキメラ蛋白質では延長ペプチドの切断および GPI 化が起こらず, 合成されたキメラ蛋白質が小胞体に蓄積した¹⁾。従って GPI が結合することは ALP の細胞表面への移行に役立っているようである。ところで, 発作性夜間血色素尿症 (PNH) の患者では, ALP, 補体活性制御因子を含めて複数の GPI アンカー型の膜蛋白質が赤血球, 白血球および血小板で欠損していることが知られていた。最近になって, その原因は各蛋白質のアミノ酸配列の突然変異によるのではなく, GPI アンカー部分の形成不全によりこれらの蛋白質のアンカー化が起こらないことが明らかとなった。結果として細胞表面への各蛋白質の移行が阻害され, 本来細胞表面上で補体系の調節に預かる補体活性制御因子が欠損することで溶血が引き起こされるらしい。今後 ALP を含め GPI アンカー型膜蛋白質の基礎的及び臨床的な研究がさらに大きく進展すると思われる。

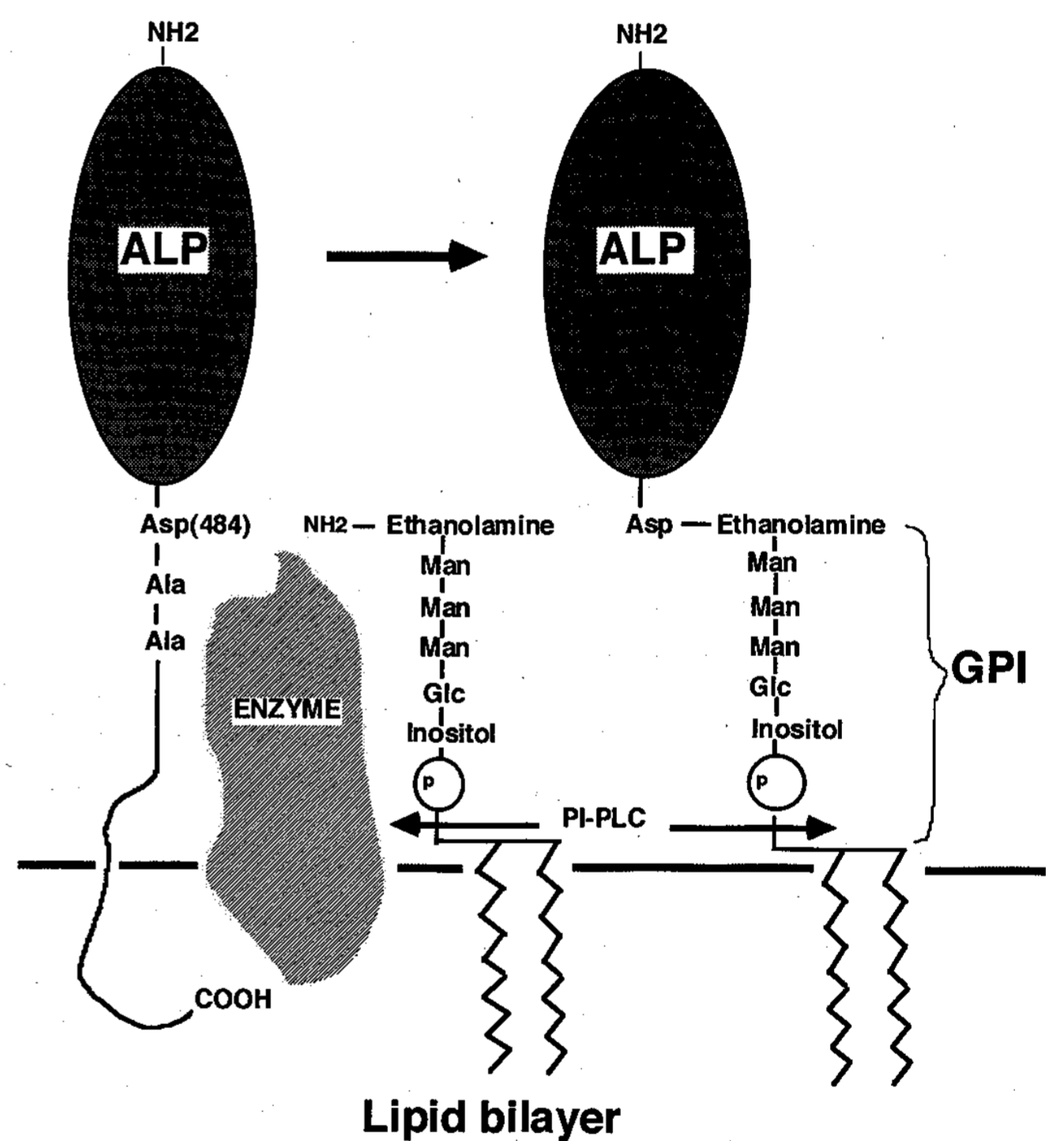


図1 アルカリホスファターゼの生合成

アルカリホスファターゼ分子は当初 C-末端側に延長ペプチドを有するプロ型として合成されるが, 小胞体の酵素により延長ペプチドの切断と同時に, アスパラギン酸(484)を介してグリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)に結合する結果, 脂質二重層の外層にアンカーされる。ALP, alkaline phosphatase; Glu, glucosamine; GPI, glycosylphosphatidylinositol; Man, mannose; P, phosphate; PI-PLC, phosphatidylinositol-specific phospholipase C

文献

- 1) 織田公光, 程 珺, 朔 敬 他: Biochem. J. (1994) 301, 577-583