

---

トピックス

---

## ビタミン K 変換酵素 UBIAD1 の変異により引き起こされる Schnyder corneal dystrophy の発症機構

### The pathogenic mechanism of Schnyder corneal dystrophy caused by mutation in vitamin K converting enzyme UBIAD1.

角膜におけるコレステロールやリン脂質の異常な蓄積が原因で視力が著しく低下する Schnyder corneal dystrophy (SCD) は常染色体優性疾患である<sup>1)</sup>。角膜移植手術が SCD 患者の視力を回復する唯一の方法であり、新たな治療法の開発が急がれている。これまでに SCD は、ビタミン K 変換酵素である UbiA prenyltransferase domain containing protein 1 (UBIAD1) が原因遺伝子であり、その変異により発症することが報告されている<sup>2)</sup>。UBIAD1 は、食事から摂取されたビタミン K を基にして、側鎖である geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) を結合することでビタミン K<sub>2</sub> (menaquinone-4: MK-4) に変換する酵素である<sup>3)4)</sup>。SCD 患者における UBIAD1 の変異はこれまでに 21 系統 25 種類 (A97T, G98S, N102S, T103I, D112G/N, D118G, R119G, L121F/V, V122E/G, S171P, Y174C, T175I, G177R/E, K181R, G186R, L188H, N232S, N233H, D236E, D240N, I245N) が報告されている<sup>5)~7)</sup>。このうち N102S 変異は最も多くの症例が報告されており SCD 全症例の約 4 割を占めている<sup>5)</sup>。

Schumacher らは、このような UBIAD1 が HMG-CoA reductase (HMGCR) と結合し、小胞体関連分解 (Endoplasmic reticulum associated degradation: ERAD) を阻害することを報告した<sup>8)</sup>。HMGCR は、HMG-CoA をメバロン酸に還元する酵素であり、コレステロール合成の律速酵素である。これまでに、メバロン酸代謝経路を介して farnesyl pyrophosphate (FPP) や GGPP が産生され、これらは ubiquinone や dolichol、ビタミン K などの非ステロール系イソプレノイドの合成にも利用されることが報告されている<sup>3)9)10)</sup>。

メバロン酸代謝経路は、ステロールおよび非ステロール系イソプレノイドによる厳密なフィードバック調節を受ける。そのうちのひとつが sterol regulatory element-binding protein (SREBP) を介した HMGCR の遺

伝子転写調節である。SREBP は膜結合型転写因子であり、SREBP cleavage-activating protein (SCAP) および Insulin-induced gene (Insig) と三者複合体を形成する。細胞内にコレステロール量が増加すると、コレステロールが SCAP や Insig に結合し SREBP-SCAP-Insig の三者複合体を形成して小胞体膜上に安定に存在するため、HMGCR の転写が抑制されコレステロール合成量が減少する (図 1 左)。一方、細胞内のコレステロール量が減少し三者複合体が形成できないと、SREBP がゴルジ体へ移行した後に N 末端が切断される。N 末端が切断された活性型 SREBP は、核内へ移行し HMGCR の遺伝子転写を促進することでコレステロール合成量を増加する<sup>11)</sup> (図 1 右)。

Sever らは、細胞内コレステロール量が増加すると、Insig が HMGCR に結合することを見いだした<sup>12)13)</sup>。Insig が HMGCR に結合すると、Insig 誘導性の E3 ユビキチンリガーゼが HMGCR をユビキチン化することで小胞体膜で ERAD が起こりコレステロール合成量が減少する (図 1 左)。一方、細胞内コレステロール量が減少すると、コレステロールによる Insig の HMGCR と結合せず HMGCR の ERAD が抑制されるため、コレステロール合成量が増加する<sup>14)</sup> (図 1 右)。このように、細胞内で正常にコレステロール代謝を行うために、HMGCR の発現制御や HMGCR の ERAD が厳密に調節されている。

これまでに Nickerson らは、HMGCR に結合するタンパク質を共免疫沈降法を用いて探索した結果、SCD の原因遺伝子である UBIAD1 が結合することを見いだした<sup>6)15)</sup>。また、UBIAD1 は HMGCR と結合することで、HMGCR の ERAD を阻害し、コレステロール合成量を増加させることが報告された<sup>15)</sup>。このことから、UBIAD1 は細胞内のコレステロール代謝調節に重要な役割を担う可能性が考えられた。Elsabrouty らは、UBIAD1

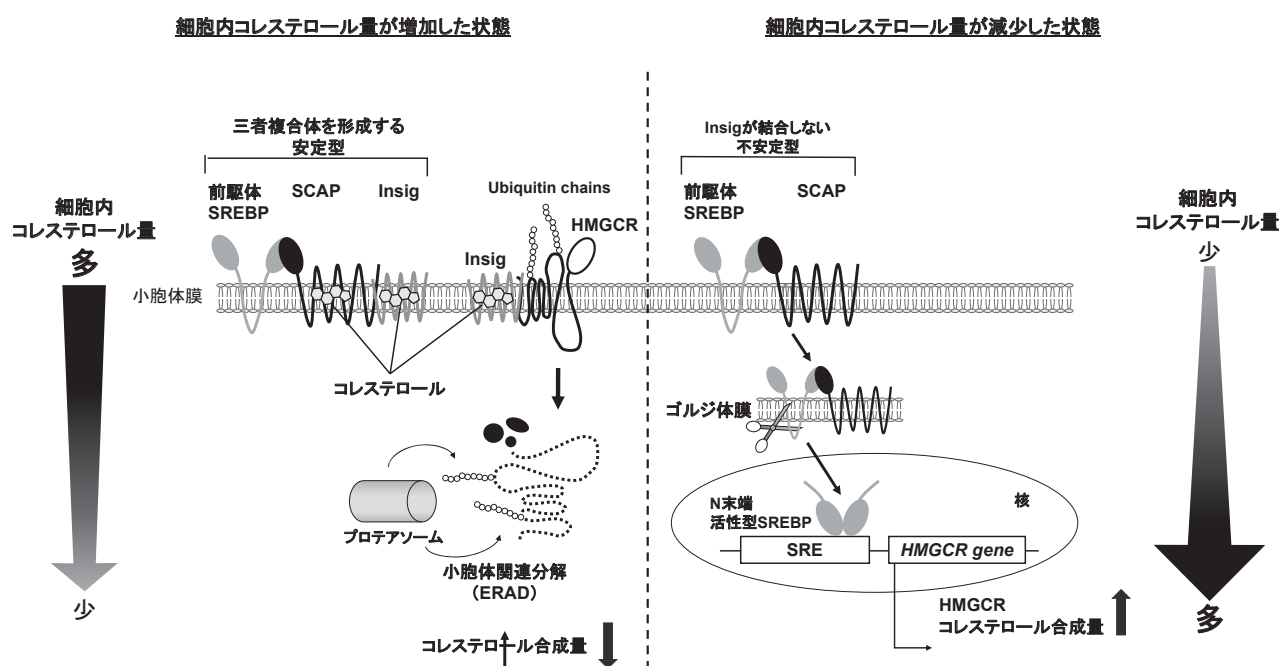


図1 細胞内コレステロールの代謝調節機構

と HMGCR の結合がどのように制御されているか評価した結果、MK-4 の側鎖源である GGPP を細胞に処理することで HMGCR の ERAD が促進されたことを見いだした<sup>16)</sup>。非ステロールである GGPP が UBIAD1 と HMGCR の結合を制御し、コレステロール合成を調節する可能性が示唆された。

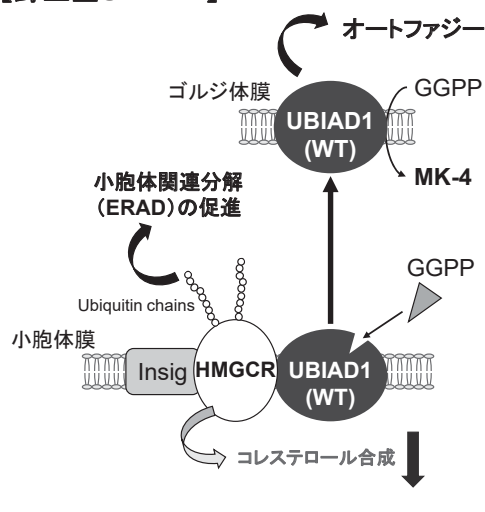
Schumacher らは、細胞に GGPP を処理することで UBIAD1 と HMGCR の結合が解離されるか評価した。その結果、GGPP を処理することで UBIAD1 はゴルジ体に移行し、HMGCR との結合が解離されたことを見いだした<sup>8)</sup>。さらに、UBIAD1 が HMGCR から解離したことで、HMGCR の ERAD が促進され、コレステロール合成量が減少することが報告された<sup>8)17)</sup>。一方、GGPP が枯渇した細胞では、UBIAD1 は HMGCR と結合し、HMGCR の ERAD を阻害することでコレステロール合成を促進することが報告されている<sup>8)17)</sup>。このように、細胞内の GGPP 量に応じて UBIAD1 と HMGCR との結合が制御されており、コレステロール合成を調節することが考えられている(図2左)。しかし、SCD 患者で認められている UBIAD1 変異を発現する細胞では、細胞に GGPP を処理した場合においても UBIAD1 変異体は小胞体に局在し、HMGCR の ERAD を阻害することでコレステロール合成を促進し続けることが示された<sup>8)</sup>(図2右)。SCD 患者で認められている UBIAD1 の変異では、HMGCR の ERAD の阻害により

コレステロール合成が促進されることに加え、MK-4 変換活性が低下することが報告されており<sup>6)18)19)</sup>、MK-4 がコレステロール代謝の調節に関与する可能性が示唆されている。

これらの知見から、Jo らは、HMGCR の ERAD やコレステロール代謝の制御における UBIAD1 の役割を詳細に評価することを目的として、Ubiad1 変異体(N100S)のノックインマウス(Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウス)を作成した<sup>21)</sup>。UBIAD1 の N102S 変異は SCD 全症例で最も多く存在し、マウス型変異は N100S 変異体であることが報告されている<sup>5)</sup>。Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウスは野生型と比較して、様々な組織(肝臓、眼、腎臓、脳、精巣、脾臓、膵臓)において、Ubiad1 (N100S) および Hmgcr タンパク質の発現量が顕著に増加した<sup>20)</sup>。UBIAD1 は全身に発現する酵素であるが、SCD 患者における細胞内コレステロールの蓄積は、角膜以外の組織では認められていないことが報告されている<sup>21)</sup>。肝臓、膵臓、肺、脾臓などの組織では、体循環により効率的に脂質を交換することができる。しかし、角膜は血管系を欠き体循環から分離されているため、脂質の交換が効率的に行えないことが SCD 患者の角膜におけるコレステロール蓄積に起因していると考えられている<sup>21)</sup>。

Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウスの肝臓では、Hmgcr タンパク質および Ubiad1 (N100S) タンパク質の発現量が野生型

## 【野生型UBIAD1】



## 【N102S変異型UBIAD1】

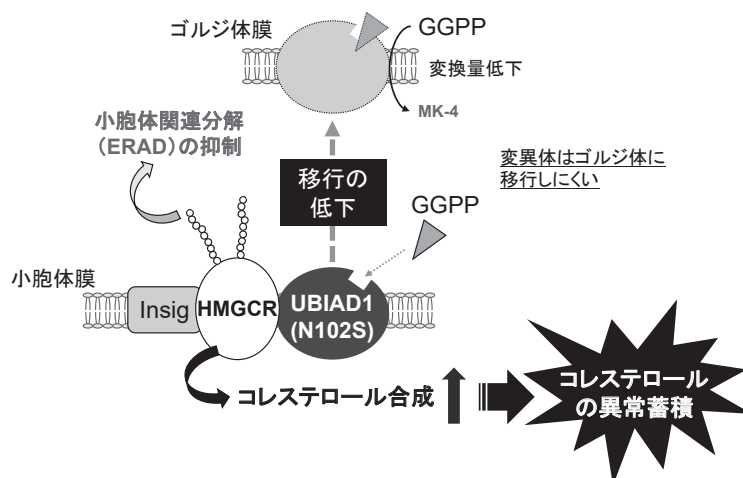


図2 UBIAD1の変異による細胞内コレステロールの異常蓄積機構

と比較して顕著に増加したが、MK-4変換量は約50%減少した<sup>20)</sup>。また細胞内では、Ubiad1(N100S)はGGPP存在下でもゴルジ体へ移行せず小胞体に局在するため、HmgcrのERADが起こらず、コレステロール合成量を増加することが示された<sup>20)</sup>。このことから、SCD患者におけるUBIAD1変異はMK-4変換を抑制し、HMGCRのERADを阻害することでコレステロール合成を促進することが示された。

Joらは、UBIAD1によるHMGCRのERADの阻害機構を解明する目的で、ユビキチン化を受けないことが報告されているHmgcrのK89R/K248R変異体をノックインしたマウスを作成し、そのHmgcr変異体のERADを評価した<sup>20)</sup>。その結果、野生型ではコレステロールを処理することでHmgcrのERADが促進されるが、ユビキチン化を受けないHmgcr変異体のノックインマウスではその分解が抑制された<sup>20)</sup>。次に、Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウスにおけるHmgcrのERADを評価した結果、コレステロールを処理することでHmgcrはユビキチン化されたが、HmgcrのERADは阻害された<sup>20)</sup>。

これらのことから、正常な人の角膜には、細胞内コレステロール量が増加するとHMGCRがユビキチン化を受け、HMGCRがERADされることでコレステロール合成量が減少する機構が備わっている。(図2左)。しかし、SCD患者では、細胞内コレステロール量が増加した場合においてもUBIAD1変異体が小胞体膜上でユビキチン化されたHMGCRと結合し、HMGCRのERADを阻害することでコレステロールが過剰に合成

されることが示唆された<sup>20)</sup>(図2右)。

Joらにより、UBIAD1変異がHMGCRのERADを阻害することでコレステロール合成が過剰に促進されることが示された。また、角膜にコレステロールが異常に増加したことで、SCD患者の特徴的な症状である角膜白濁が50週齢のUbiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウスで認められたことを報告している<sup>20)</sup>。Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウスの角膜において、コレステロール合成の中間体や遊離コレステロール量の増加は認められているが、総コレステロール量の増加は認められていない<sup>20)</sup>。そこでJoらは、Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>マウスの角膜における、細胞内コレステロールの排出に関与するATP binding cassette (ABC) トランスポーターのmRNA発現量を評価した結果、その発現が上昇していることを見いだした<sup>20)</sup>。これらのことから、SCD患者で認められているUBIAD1変異体はHMGCRのERADを阻害することでメバロン酸代謝経路を促進し、コレステロール合成の中間体によりABCトランスポーターの発現が上昇したと考えられている<sup>20)</sup>。また、UBIAD1の変異により異常に増加したコレステロールはABCトランスポーターを介して細胞から排出され、角膜に沈着することで角膜白濁を発症すると考えられている<sup>20)</sup>(図3)。今後、UBIAD1の変異による遊離コレステロールの蓄積や食事性コレステロールによるSCDの進行に対する影響についてさらなる研究が求められている。

このようなUBIAD1の変異によりHMGCRのERADが阻害されることで起こるコレステロール量の異常な

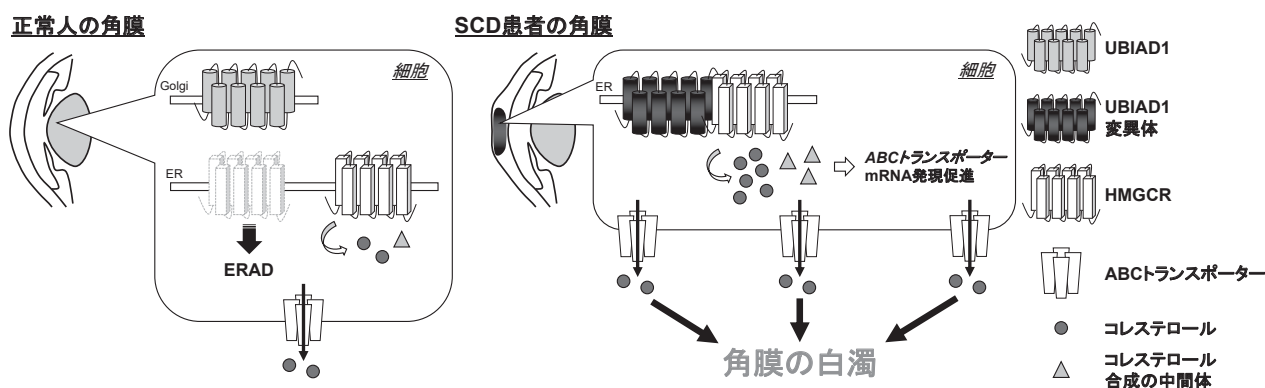


図3 SCD患者の角膜におけるコレステロール代謝異常

増加による角膜白濁は、Jiang らが作成した Ubiad1 の *G184R* 変異のノックインマウス (*Ubiad1<sup>G184R/WT</sup>* マウス) においても認められている<sup>21)</sup>。マウス Ubiad1 の *G184R* 変異は SCD 患者に認められている UBIAD1 の *G186R* 変異に対応する<sup>5) 22)</sup>。また、古細菌由来の UbiA の構造解析より *G186* 残基は細胞膜表面に露出したループに位置することが報告されており、*G186R* 変異は他のタンパク質との相互作用に影響を与える可能性があると考えられている<sup>23)</sup>。Jiang らが作成した *Ubiad1<sup>G184R/WT</sup>* マウスの細胞内コレステロール量の増加および角膜白濁は、2 年齢で顕著に認められるが、3 か月齢ではほとんど認められない<sup>21)</sup>。このことから、ヘテロ接合の UBIAD1 変異を持つ SCD 患者は、加齢に伴う角膜白濁の進行が遅いことが考えられている<sup>21)</sup>。また、興味深いことに、*Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>* マウスは正常に生まれてくるのに対して、*Ubiad1<sup>G184R/G184R</sup>* マウスは胎生致死を示す。SCD 患者における UBIAD1 の *G186R* 変異は全てヘテロ接合体で認められているため<sup>22)</sup>、*Ubiad1<sup>G184R/WT</sup>* マウスモデルは SCD 患者におけるコレステロール代謝調節機構をより厳密に模倣していると考えられている<sup>21)</sup>。また、これまでに、*Ubiad1* 欠損マウスは MK-4 変換活性を欠き、胎児の発達過程で死に至ることが報告されている<sup>24)</sup>。したがって、UBIAD1 の *G186R* 変異が *N102S* 変異よりも MK-4 変換活性に影響を与える可能性が考えられている<sup>20) 21)</sup>。

コレステロール合成の律速酵素である HMGCR の ERAD を制御する酵素が、*Ubiad1<sup>N100S/N100S</sup>* マウスおよび *Ubiad1<sup>G184R/WT</sup>* マウスを用いた研究により UBIAD1 であることが示された<sup>20) 21)</sup>。UBIAD1 変異体は、細胞内にコレステロールや GGPP が増加した場合においても、小胞体に局在し HMGCR の ERAD を阻害することでコレステロール代謝が異常になり SCD を発症する。したがって、SCD の発症が認められている UBIAD1 変

異体を小胞体からゴルジ体へ移行させる GGPP を模倣した誘導体が開発できれば、GGPP 誘導体により HMGCR の ERAD を促進することで角膜におけるコレステロール量の異常な増加の防止または進行を遅らせることができると期待されている<sup>17) 18) 20)</sup>。

**Key words** : Vitamin K, UBIAD1, HMGCR, SCD, cholesterol metabolism

<sup>1</sup>System Engineering and Science, Graduate School of Engineering and Science, Shibaura Institute of Technology, Japan

<sup>2</sup>Extension Center, Kobe Pharma Kobe Pharmaceutical University, Japan

Sho Sano<sup>1</sup>, Tasuku Arai<sup>1</sup>, Wataru Kiyono<sup>1</sup>, Rina Watanabe<sup>1</sup>, Taiki Honma<sup>1</sup>, Maya Kamao<sup>2</sup>, Yoshitomo Suhara<sup>1</sup>, Yoshihisa Hirota<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 芝浦工業大学大学院 理工学研究科 システム理工学専攻 生命創薬科学分野,

<sup>2</sup> 神戸薬科大学 エクステンションセンター

佐野 翔<sup>1</sup>, 新井 佑<sup>1</sup>, 清野 航<sup>1</sup>, 渡邊 莉菜<sup>1</sup>, 本間 大暉<sup>1</sup>, 鎌尾 まや<sup>2</sup>, 須原 義智<sup>1</sup>, 廣田 佳久<sup>1</sup>

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2023.2.10 受付)

## 文 献

- 1) Gaynor PM, Zhang WY, Weiss JS, Skarlatos SI, Rodrigues MM, Kruth HS (1996) Accumulation of HDL Apolipoproteins



- Accompanies Abnormal Cholesterol Accumulation in Schnyder's Corneal Dystrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **16**, 992–999
- 2) Orr A, Dubé MP, Marcadier J, Jiang H, Federico A, George S, Seamone C, Andrews D, Dubord P, Holland S, Provost S, Mongrain V, Evans S, Higgins B, Bowman S, Guernsey D, Samuels M (2007) Mutations in the UBIAD1 gene, encoding a potential prenyltransferase, are causal for Schnyder crystalline corneal dystrophy. *PLoS One* **2**, e685
  - 3) Nakagawa K, Hirota Y, Sawada N, Yuge N, Watanabe M, Uchino Y, Okuda N, Shimomura Y, Suhara Y, Okano T (2010) Identification of UBIAD1 as a novel human menaquinone-4 biosynthetic enzyme. *Nature* **468**, 117–121
  - 4) Hirota Y, Tsugawa N, Nakagawa K, Suhara Y, Tanaka K, Uchino Y, Takeuchi A, Sawada N, Kamao M, Wada A, Okitsu T, Okano T (2013) Menadione (vitamin K<sub>3</sub>) is a catabolic product of oral phylloquinone (vitamin K<sub>1</sub>) in the intestine and a circulating precursor of tissue menaquinone-4 (vitamin K<sub>2</sub>) in rats. *J Biol Chem* **288**, 33071–33080
  - 5) Nickerson ML, Kostiha BN, Brandt W, Fredericks W, Xu KP, Yu FS, Gold B, Chodosh J, Goldberg M, Lu DW, Yamada M, Tervo TM, Grutzmacher R, Croasdale C, Hoeltzenbein M, Sutphin J, Malkowicz SB, Wessjohann L, Kruth HS, Dean M, Weiss JS (2010) UBIAD1 Mutation Alters a Mitochondrial Prenyltransferase to Cause Schnyder Corneal Dystrophy. *PLoS One* **5**, e10760
  - 6) Nickerson ML, Bosley AD, Weiss JS, Kostiha BN, Hirota Y, Brandt W, Esposito D, Kinoshita S, Wessjohann L, Morham SG, Andresson T, Kruth HS, Okano T, Dean M (2013) The UBIAD1 Prenyltransferase Links Menaquinone-4 Synthesis to Cholesterol Metabolic Enzymes. *Hum Mutat* **34**, 317–329
  - 7) Dong F, Jin X, Boettler MA, Sciulli H, Abu-Asab M, Greco CD, Wang S, Hu YC, Campos MM, Jackson SN, Muller L, Woods AS, Combs CA, Zhang J, Nickerson ML, Kruth HS, Weiss JS, Kao WW (2018) A Mouse Model of Schnyder Corneal Dystrophy with the N100S Point Mutation. *Sci Rep* **8**, e10219
  - 8) Schumacher MM, Jun DJ, Johnson BM, DeBose-Boyd RA (2018) UbiA prenyltransferase domain-containing protein-1 modulates HMG-CoA reductase degradation to coordinate synthesis of sterol and nonsterol isoprenoids. *J Biol Chem* **293**, 312–323
  - 9) Goldstein JL, Brown MS (1990) Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* **343**, 425–430
  - 10) Wang M, Casey PJ (2016) Protein prenylation: unique fats make their mark on biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* **17**, 110–122
  - 11) Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, Goldstein JL (2003) Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 12027–12032
  - 12) Sever N, Yang T, Brown MS, Goldstein JL, DeBose-Boyd RA (2003) Accelerated degradation of HMG CoA reductase mediated by binding of insig-1 to its sterol-sensing domain. *Mol Cell* **11**, 25–33
  - 13) Sever N, Song BL, Yabe D, Goldstein JL, Brown MS, DeBose-Boyd RA (2003) Insig-dependent ubiquitination and degradation of mammalian 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase stimulated by sterols and geranylgeraniol. *J Biol Chem* **278**, 52479–52490
  - 14) Morris LL, Hartman IZ, Jun DJ, Seemann J, DeBose-Boyd RA (2014) Sequential actions of the AAA-ATPase valosin-containing protein (VCP)/p97 and the proteasome 19 S regulatory particle in sterol-accelerated, endoplasmic reticulum (ER)-associated degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem* **289**, 19053–19066
  - 15) Schumacher MM, Elsabrouty R, Seemann J, Jo Y, DeBose-Boyd RA (2015) The prenyltransferase UBIAD1 is the target of geranylgeraniol in degradation of HMG CoA reductase. *eLIFE* **4**, e05560
  - 16) Elsabrouty R, Jo Y, Dinh TT, DeBose-Boyd RA (2013) Sterol-induced dislocation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase from membranes of permeabilized cells. *Mol Biol Cell* **24**, 3300–3308
  - 17) Jo Y, Kim SS, Garland K, Fuentes I, DiCarlo LM, Ellis JL, Fu X, Booth SL, Evers BM, DeBose-Boyd RA (2020) Enhanced ER-associated degradation of HMG CoA reductase causes embryonic lethality associated with Ubiad1 deficiency. *eLife* **9**, e54841
  - 18) Jun DJ, Schumacher MM, Hwang S, Kinch LN, Grishin NV, DeBose-Boyd RA (2020) Schnyder corneal dystrophy-associated UBIAD1 is defective in MK-4 synthesis and resists autophagy-mediated degradation. *J Lipid Res* **61**, 746–757
  - 19) Hirota Y, Nakagawa K, Sawada N, Okuda N, Suhara Y, Uchino Y, Kimoto T, Funahashi N, Kamao M, Tsugawa N, Okano T (2015) Functional Characterization of the Vitamin K2 Biosynthetic Enzyme UBIAD1. *PLoS One* **10**, e0125737
  - 20) Jo Y, Hamilton JS, Hwang S, Garland K, Smith GA, Su S, Fuentes I, Neelam S, Thompson BM, McDonald JG, DeBose-Boyd RA (2019) Schnyder corneal dystrophy-associated UBIAD1 inhibits ER-associated degradation of HMG CoA reductase in mice. *eLife* **9**, e44396
  - 21) Jiang SY, Tang JJ, Xiao X, Qi W, Wu S, Jiang C, Hong J, Xu J, Song BL, Luo J (2019) Schnyder corneal dystrophy-associated UBIAD1 mutations cause corneal cholesterol accumulation by stabilizing HMG-CoA reductase. *PLoS Genet* **15**, e1008289
  - 22) Weiss JS, Kruth HS, Kuivaniemi H, Tromp G, Karkera J, Mahurkar S, Lisch W, Dupps WJ Jr, White PS, Winters RS, Kim C, Rapuano CJ, Sutphin J, Reidy J, Hu F - R, Lu DW, Ebenezer N, Nickerson ML (2008) Genetic analysis of 14 families with Schnyder crystalline corneal dystrophy reveals clues to UBIAD1 protein function. *Am J Med Genet A* **146**, 271–283
  - 23) Li W (2016) Bringing Bioactive Compounds into Membranes: The UbiA Superfamily of Intramembrane Aromatic Prenyltransferases. *Trends Biochem Sci* **41**, 356–370
  - 24) Nakagawa K, Sawada N, Hirota Y, Uchino Y, Suhara Y, Hasegawa T, Amizuka N, Okamoto T, Tsugawa N, Kamao M, Funahashi N, Okano T (2014) Vitamin K2 biosynthetic enzyme, UBIAD1 is essential for embryonic development of mice. *PLoS One* **9**, e104078