

阿部 一啓 (ABE Kazuhiro)

創薬科学研究館 2階 208室

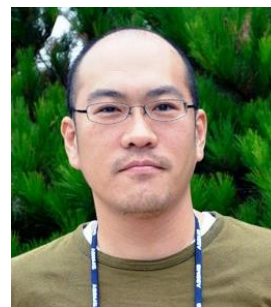
Tel : 052-747-6838

E-mail : kabe@cespi.nagoya-u.ac.jp

ResearcherID : [D-7662-2013](https://orcid.org/0000-0001-9111-1111)

[Google scholar](#)

[名古屋大学教員データベース](#)



胃プロトンポンプの構造機能研究

我々が食物を摂取すると、胃酸（塩酸）が分泌され胃の内部はpH（ペーハー）1という、非常に酸性度の高い状態になります。この強酸性環境（塩酸に換算して0.1 mol/l）は、タンパク質分解酵素であるペプシンの活性化に必要です。また、摂取したタンパク質は強酸性環境によって酸変性し、ペプシンによって分解されやすい形になります。従って、胃酸はタンパク質の消化にとってなくてはならないものです（図1左）。また、胃の内部には摂取した食物が数時間留まりますが、咀嚼嚥下した富栄養物が体温下で滞留しているにもかかわらず、これが腐敗しない理由は、強酸性環境が細菌の繁殖を抑えているからにほかなりません（図1中）。このように、『消化』という我々の生命の営みにとって欠くことが出来ない重要な働きを担う胃酸ですが、時としてこの強酸性環境は自身に牙を剥きます。暴飲暴食、様々なストレスなどにより、胃酸と胃粘膜分泌のバランスが崩れると、胃酸は胃本体を傷つけ、不快な胸焼けや、ひどい場合には胃潰瘍といった重篤な症状を呈します。このような症状の治療には、胃酸抑制剤が用いられます（図1右）。

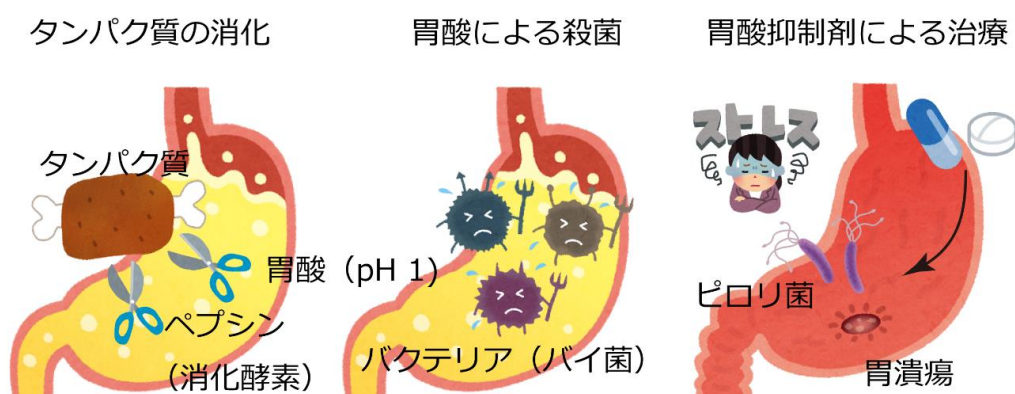


図1. 胃酸の役割

胃酸分泌によって胃の内部が酸性 (pH 1) になると、(左) 摂取したタンパク質が変性し、消化されやすい形になります。また、タンパク質分解酵素であるペプシンは酸性状態で活性化されます。

(中) 強い酸性条件では、殆どの細菌が生存できません。口を經由して侵入してきた細菌たちは、胃酸によって殺菌されます。(右) 胃酸によって胃自身が傷つくことで、胃潰瘍になります。この治療に胃酸抑制剤が用いられています。また、ピロリ菌は胃酸の中でも生きられる数少ない細菌で、胃潰瘍や胃癌の原因とされていますが、この細菌を抗生物質で除菌するときにも、胃酸を抑制する必要があります。

上述した胃内部の強酸性環境を生み出す為に中心的な役割を果たしているのが、**胃プロトンポンプ**と呼ばれる、『酸』（プロトン、 H^+ ）を胃の中に汲み出す（ポンプする）タンパク質です（図 2）。胃プロトンポンプは、胃の表面、胃壁細胞の細胞膜で働いています。酸性度の高い、つまり H^+ の濃度が高い（pH の低い）胃の内部に向かって H^+ を輸送することは、濃度勾配に逆らった輸送なのでエネルギーが必要です（能動輸送）。胃プロトンポンプは、細胞内に存在する ATP（アデノシン三リン酸、細胞のエネルギー共通通貨とも言われる）をエネルギー源として、胃の中に H^+ を輸送し、反対方向に K^+ （カリウムイオン）を輸送します。このような働きから、別名 $H^+,K^+-ATPase$ （ATP のエネルギーを使って H^+ と K^+ を輸送するタンパク質、という意味）と呼ばれます。細胞の内部が中性（pH 7 付近）であることを考えると、胃の内部との pH 差は 6 ユニットにあたり、これは H^+ 濃度に換算すると $10^6 = 1,000,000$ 倍の差ということになります。細胞膜を隔てたこのような大きなイオン濃度差は、我々の体の他の組織を見渡しても見つからない、非常に大きなものです。なぜ胃プロトンポンプが胃の中に pH 1 もの強酸性環境を作り出せるのかという問題は、いまから 40 年以上前にこの分子が同定されて以来ずっと未解決の謎でした。

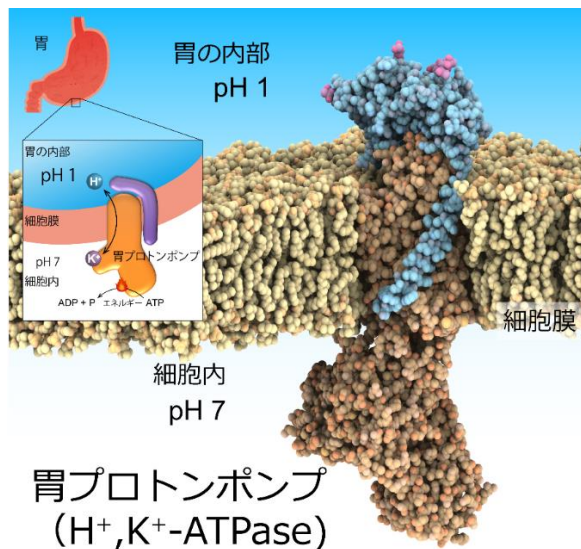


図 2. 胃プロトンポンプ

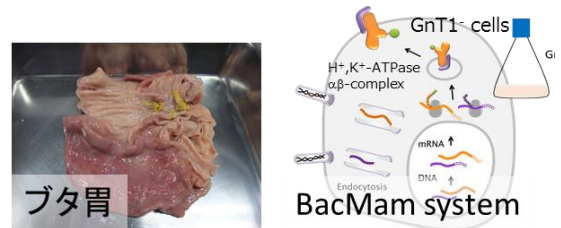
消化にとって重要な臓器である胃の表面には、胃酸を分泌する胃プロトンポンプが発現しています。このプロトンポンプが、細胞内のエネルギーを利用して H^+ （プロトン）を胃の内部へと輸送することで、胃の内部を pH 1 という強い酸性環境にしています。これは消化にとって重要ですし、胃潰瘍の原因にもなるので、胃酸抑制剤のターゲットとされています。

研究方法

胃プロトンポンプの作動機構の理解の為に、以下の手法を用いた研究に取り組んでいます。

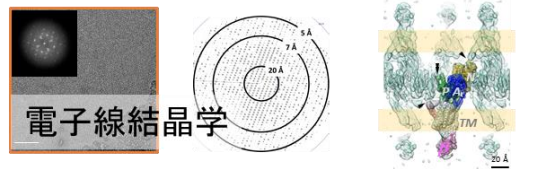
①天然物（ブタ胃）からの大量精製法

ブタの胃からは、一度に大量の胃プロトンポンプを精製することが可能です。



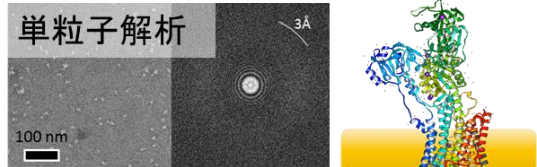
②動物細胞発現系（BacMam system）

哺乳類の膜タンパク質は、細胞内品質管理システムや脂質組成の違いから、酵母や昆虫細胞ではうまく発現しないことがあります。動物細胞を宿主とした改変バキュロウイルスによる目的遺伝子の発現（BacMam system, Dukkupati *et al.*, 2008, *Protein Exp. Purif.*）は、組み替え膜輸送体の構造機能解析を可能にします。



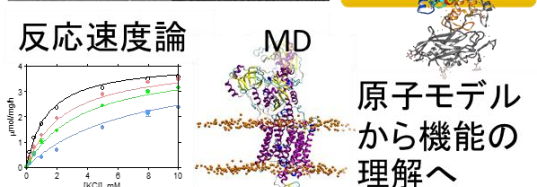
③電子線結晶学

膜タンパク質を脂質二重膜に再構成した状態で結晶化した二次元結晶を用いて、極低温電子顕微鏡によって構造解析します（Abe *et al.*, 2011, *Nat. Commun.*, Abe *et al.*, 2012, *PNAS* ほか）。



④X線結晶構造解析

三次元結晶を作製し、大型放射光施設 SPring-8 を利用することで、高分解能の構造解析を行います（Abe *et al.*, 2018, *Nature*）。



⑤単粒子解析

タンパク質を結晶化することなく構造解析を行う手法。電子線直接検出器を備えた低温顕微鏡により構造解析を行います。

⑥反応速度論的機能解析

立体構造から得られた情報は機能解析によって検証されます。変異体を利用した反応速度論的解析は、雄弁に分子の機能を語ります（Abe *et al.*, 2009, *EMBO J.* ほか）。

⑦分子動力学計算（Dr. Khanderia, University of Southern Denmark との共同研究）
プロトンやイオンの配位状態、薬剤のドッキングシミュレーションなど、構造解析だけではカバーできない領域をコンピューターによって解析します（Dubey *et al.*, 2018, *Sci. Rep.*）。

最近の成果 (Abe *et al.*, 2018, *Nature* を中心として)

(1) 胃酸抑制剤結合構造

胃酸分泌の直接的な担い手であるが故に、胃プロトンポンプは胃酸抑制剤のターゲットとされ、この分子の特異的阻害剤は胃潰瘍等の治療に用いられてきました。また、胃癌の原因とされるピロリ菌の除菌は胃酸を抑制した状態で行う必要があり、抗生物質と共に胃酸抑制剤が服用されます(図1右)。最近上市された vonoprazan (商品名: タケキャブ[®]錠、武田薬品工業株式会社) という化合物は、高い親和性で対向輸送イオンである K^+ と競合的に胃プロトンポンプに結合し、この活性を阻害します。この薬剤は、以前まで主流であった PPI (Proton Pump Inhibitor) とは異なる機序で胃プロトンポンプを阻害する新しいクラスの薬剤で、P-CAB (K^+ -Competitive Acid Blocker) というクラスに分類されます。P-CAB は PPI と比べ迅速に胃酸分泌を抑制し、PPI よりも高い治療効果が期待されています。

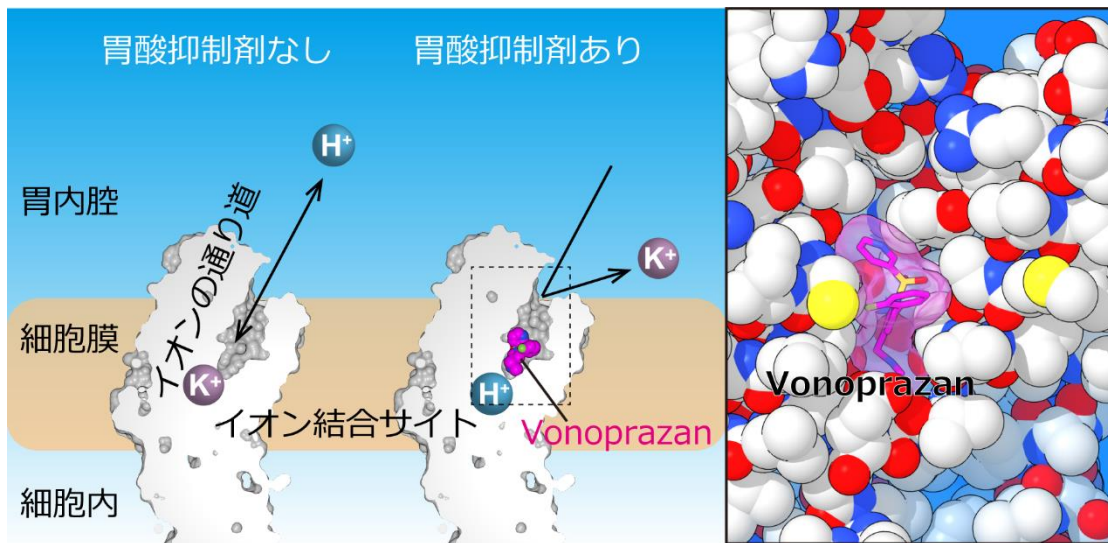


図3. 胃酸抑制剤

胃プロトンポンプは、イオン結合サイトから胃の中に H^+ を送り出し、代わりに K^+ を取り込みます。図左は、胃プロトンポンプの細胞膜付近の構造を縦に輪切りにしたスライスを示しています。今回の構造では、胃酸抑制剤 (vonoprazan, マゼンタで表示) がちょうどイオンの通り道にはまり込むように結合しており、イオンが通過できなくなっていました(中)。結合部位を拡大すると、胃酸抑制剤がタンパク質(アミノ酸を球で表示してある)の窪みにすっぽりとはまり込んでいる様子がわかります(図右)。

胃酸抑制剤は、胃プロトンポンプのイオンの通り道にすっぽりとはまり込み、これをブロックすることで活性を阻害していることが判明しました(図3)。また、これらの化合物が胃プロトンポンプに対してどの様に結合しているかが原子レベルで判明したことにより、構造に基づいた論理的な分子の設計が可能となり、今後、新しい胃酸抑制剤の創製や、既存薬剤の更なる改良が期待されます。

(2) 強酸性環境 (pH 1) を作り出す仕組みを説明

胃プロトンポンプは、細胞内から膜貫通部位に存在するイオン結合サイトへとH⁺を取り込み、ATPのエネルギーを使ってこれを細胞外（胃内腔）へと排出することで、胃の内部にH⁺濃度の高い（pHの低い）状態を作り出します。イオン結合サイトには、複数の酸性アミノ酸（グルタミン酸）が存在しており、これがH⁺を結合/解離します。しかしながら、グルタミン酸がH⁺を解離できるのは、せいぜいpH 3~4程度の溶液までであり、胃内部のpH 1という環境にH⁺を放出することは、通常であれば不可能な反応です。

今回、明らかになった構造は、胃プロトンポンプが、まさに胃の内部にH⁺を放出した直後の状態を捉えていました（図4左）。H⁺結合部位では、2つのグルタミン酸が異常に近接した構造になっており、これによって、通常よりもH⁺を解離しやすい状態を作り出していることがわかりました。さらに、この近接した2つのグルタミン酸に対して、正電荷を帯びたリジンが静電的に相互作用~マイナスの電荷とプラスの電荷が引き合うように結合~していました。このような荷電アミノ酸の近接構造によって、イオン結合部位はもはやH⁺を保持していることが出来なくなり、たとえpH 1もの強酸性の溶媒（胃酸）であってもH⁺の放出が可能になると考えられます。この仕組みは、ちょうどビリヤードの玉（H⁺）がキュー（リジン）ではじき出されるように、グルタミン酸からH⁺が1つだけ胃の中へとはじき出されることを想起させます（図4右）。

このリジンは、カエルからヒトまですべての胃プロトンポンプで共通するアミノ酸ですが、近縁のイオンポンプであるナトリウムポンプやカルシウムポンプでは、ちょうどこの位置にあるアミノ酸が、リジンからセリンへと置き換わっています。このようなイオン結合サイトのアミノ酸の違いや構造の違いによって、胃プロトンポンプは、他のイオンポンプでは達成できない強い酸性環境を胃の内部に作り出すことができるという仕組みが、今回の構造解析によって初めて明らかになりました。

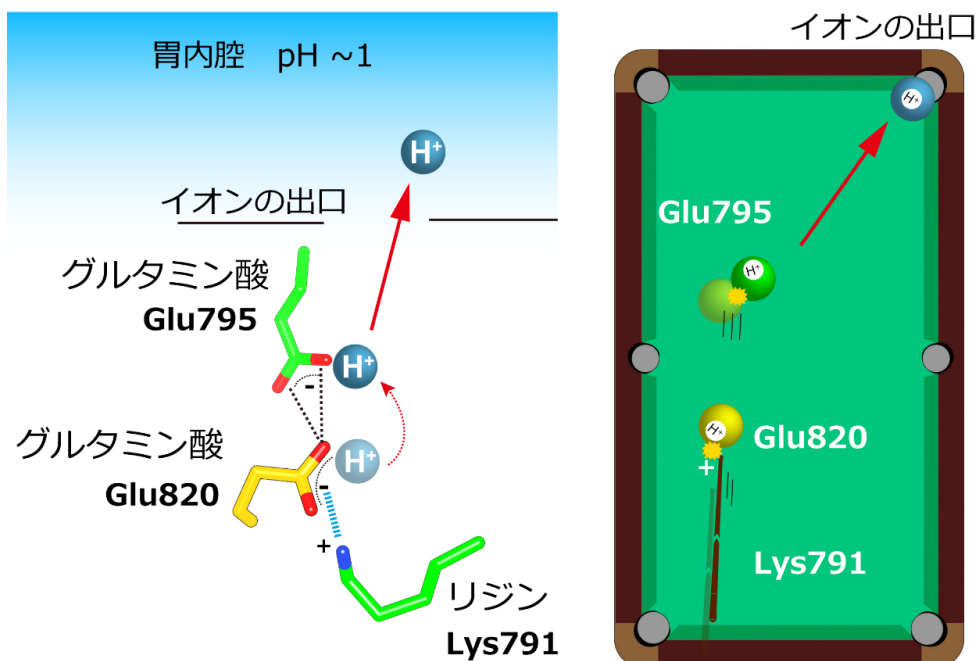


図4. 胃プロトンポンプによるH⁺輸送モデル（玉突きモデル）

イオン結合サイトには、2つのグルタミン酸（Glu795, Glu820）と、プラスに帯電したリジン（Lys791）が非常に近接した状態を作り出していました（左）。これによって、Glu820はもはやH⁺を保持することができなくなり、ちょうどビリヤードのように（右）隣りのGlu795へとH⁺を離します。Glu795は胃内部の溶液に面しており、ここからH⁺が1つだけ、pH

業績リスト ([ResearcherID : D-7662-2013](#))

論文 *correspondence, †equally contributed

1. K⁺ binding and proton redistribution in the E₂P state of the H⁺,K⁺-ATPase
Dubey, V., Han, M., Kopec, W., Solov'yov, I. A., Abe, K. & *Khanderia, H.
Sci. Rep., 8, 12732 (2018)
DOI: 10.1038/s41598-018-30885-w
2. Crystal structures of the gastric proton pump.
*Abe, K., Irie, K., Nakanishi, H., Suzuki, H. & Fujiyoshi, Y.
Nature, 556, 214-218 (2018)
DOI : 10.1038/s41586-018-0003-8
3. The cryo-EM structure of gastric H⁺,K⁺-ATPase with bound BYK99, a high-affinity member of K⁺-competitive, imidazo[1,2-*a*]pyridine inhibitors.
*Abe, K., Shimokawa, J., Naito, M., Munson, K., Vagin, O., Sachs, G., Suzuki, H., Tani, K. & Fujiyoshi, Y.
Sci. Rep., 7, 6632 (2017)
DOI : 10.1038/s41598-017-06698-8
4. Systematic comparison of molecular conformations of H⁺,K⁺-ATPase reveals an important contribution of the A-M2 linker for the luminal gating.
*Abe, K., Tani, K. & Fujiyoshi, Y.
J. Biol. Chem., 289(44), 30590-30601 (2014)
DOI : 10.1074/jbc.M114.584623
5. Carbon sandwich preparation preserves quality of two-dimensional crystals for cryo-electron microscopy.
†Yang, F., †Abe, K., Tani, K. & *Fujiyoshi Y. (†co-first authors)
Microscopy (Oxf), 62, 597-606 (2013)
DOI : 10.1093/jmicro/dft038
6. The four-transmembrane protein IP39 of *Euglena* forms strands by a trimeric unit repeat.
Suzuki, H., Ito, Y., Yamazaki, Y., Mineta, K., Uji, M., Abe, K., Tani, K., *Fujiyoshi, Y. & *Tsukita, S.
Nat. Commun., 4, 1766 (2013).
DOI : 10.1038/ncomms2731
7. Cryo-EM structure of gastric H⁺,K⁺-ATPase with a single occupied cation-binding site.
*Abe, K., Tani, K., Friedrich, T. & Fujiyoshi, Y.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 109 (45), 18401-18406 (2012)
DOI : 10.1073/pnas.1212294109
8. Conformational rearrangement of gastric H⁺,K⁺-ATPase with an acid suppressant.
Abe, K., Tani, K. & *Fujiyoshi, Y.
Nat. Commun., 2, 155 (2011).
DOI : 10.1038/ncomms1154

9. Structural and functional characterization of H⁺,K⁺-ATPase with bound fluorinated phosphate analogs.
Abe, K., Tani, K. & *Fujiyoshi, Y.
J. Struct. Biol., 170 (1), 60-68 (2010).
DOI : 10.1016/j.jsb.2009.12.008
10. Epigallocatechin-3-gallate is an inhibitor of Na⁺,K⁺-ATPase by favoring the E₁ conformation.
Ochiai, H., Takeda, K., Soeda, S., Tahara, Y., Takenaka, H., Abe, K., Hayashi, Y., Noguchi, S., Inoue, M., Schwarz, S., Schwarz, W. & *Kawamura, M.
Biochem. Pharmacol., 78 (8), 1069-1074 (2009).
DOI : 10.1016/j.bcp.2009.06.007
11. E₂P state stabilization by the N-terminal tail of the H,K-ATPase beta-subunit is critical for efficient proton pumping under *in vivo* conditions.
*Dürr, K., Abe, K., Tavraz, N.N. & Friedrich, T.
J. Biol. Chem., 284 (30), 20147-20154 (2009)
DOI : 10.1074/jbc.M109.005769
12. Inter-subunit interaction of gastric H⁺,K⁺-ATPase prevents reverse reaction of the transport cycle.
Abe, K., Tani, K., Nishizawa, T. & *Fujiyoshi, Y.
EMBO J., 28 (11), 1637-1643 (2009)
DOI : 10.1038/emboj.2009.102
13. Structural analysis of 2D crystals of gastric H⁺,K⁺-ATPase in different states of the transport cycle.
†Nishizawa, T., †Abe, K., Tani, K. & *Fujiyoshi, Y. (†co-first authors)
J. Struct. Biol., 162 (2), 219-228 (2008)
DOI : 10.1016/j.jsb.2007.12.005
14. New evidence for ATP binding induced catalytic subunit interactions in pig kidney Na/K-ATPase.
Tanoue, K., Kaya, S., Hayashi, Y., Abe, K., Imagawa, T., *Taniguchi, K. & Sakaguchi, K.
J. Biochem., 140 (4), 599-607 (2006)
DOI :
15. Evidence for a relationship between activity and the tetraprotomeric assembly of solubilized pig gastric H/K-ATPase.
Abe, K., Kaya, S., *Taniguchi, K., Hayashi, Y., Imagawa, T., Kikumoto, M., Oiwa, K. & Sakaguchi, K.
J. Biochem., 138 (3), 293-301 (2005)
DOI : 10.1093/jb/mvi127
16. Correlation between the activities and the oligomeric forms of pig gastric H/K-ATPase.
Abe, K., Kaya, S., Hayashi, Y., Imagawa, T., Kikumoto, M., Oiwa, K., Katoh, T., Yazawa, M. & *Taniguchi, K.
Biochemistry, 42 (51), 15132-15138 (2003)
DOI : 10.1021/bi035686x

17. K^+ -induced simultaneous liberation of two moles of P_i , one from one mole of EP and the other from EATP, of oligomeric H/K-ATPase from pig stomach.
*Abe, K., Kaya, S., Imagawa, T. & Taniguchi, K.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 986, 281-282 (2003)

18. Gastric H/K-ATPase liberates two moles of P_i from one mole of phosphoenzyme formed from a high-affinity ATP binding site and one mole of enzyme-bound ATP at the low-affinity site during cross-talk between catalytic subunits.
Abe, K., Kaya, S., Imagawa, T. & *Taniguchi, K.
Biochemistry, 41 (7), 2438-2445 (2002)
DOI : 10.1021/bi015622r

19. Acid-labile ATP and/or ADP/ P_i binding to the tetraprotoemeric form of Na/K-ATPase accompanying catalytic phosphorylation-dephosphorylation cycle.
Yokoyama, T., Kaya, S., Abe, K., *Taniguchi, K., Katoh, T., Yazawa, M., Hayashi, Y. & Mårdh, S.
J. Biol. Chem., 274 (45), 31792-31796 (1999)

総説

1. 胃プロトンポンプの結晶構造
阿部一啓
ライフサイエンス新着論文レビュー
<http://first.lifesciencedb.jp/archives/18125>
DOI : 10.7875/first.author.2018.042
2. Cryo-electron microscopy for structural analyses of membrane proteins in the lipid bilayer
*Abe, K. & Fujiyoshi, Y.
Curr. Opin. Struct. Biol., 39, 71-78 (2016)
DOI : 10.1016/j.sbi.2016.06.001
3. Biochemical and electron crystallographic studies of gastric proton pump
*Abe, K.
SEIKAGAKU (生化学), 86 (4), 429-440 (2014)
4. Unique properties of gastric H⁺,K⁺-ATPase and conserved conformational changes among P-type ATPases
*Abe, K.
SEIKAGAKU (生化学), 84 (2), 115-119 (2012)
5. Structural analysis of gastric proton pump by cryo-electron microscopy.
*Abe, K.
Microscopy (顕微鏡), 45 (4), 264-267 (2010)
6. A novel ratchet mechanism of gastric H⁺,K⁺-ATPase revealed by electron crystallography of two-dimensional crystals.
*Abe, K., Tani, K., Nishizawa, T. & Fujiyoshi, Y.
Yakugakuzasshi (薬学雑誌), 130 (2), 205-210 (2010)
7. Relationship between activity and tetraprotomeric structure of ion-transporting ATPases.
Abe, K., & *Kaya, S.
Seikagaku (生化学), 79 (6), 527-534 (2007)
8. The oligomeric nature of Na/K-transport ATPase.
*Taniguchi, K, Kaya, S., Abe, K. & Mårdh, S.
J. Biochem., 129 (3), 335-342 (2001)

研究歴

- 2003年 日本学術振興会特別研究員 (DC2)
- 2004年 北海道大学大学院理学研究科 博士後期課程 修了 博士 (理学)
- 2004年 京都大学大学院理学研究科 生物物理学教室 藤吉研究室
日本学術振興会特別研究員 (PD)
- 2005年 日本学術振興会特別研究員 (PD)
- 2008年 バイオ産業情報化コンソーシアム研究員
- 2010年 京都大学特定研究員 (産官学連携)
- 2011年 名古屋大学 細胞生理学研究所 センター 助教
(兼務 同学創薬科学研究科)
- 2016年 名古屋大学 細胞生理学研究所 センター 准教授
(兼務 同学創薬科学研究科)

受賞歴

- 2003年 *FASEB* Summer Research Conference Young Scientist Award
- 2008年 Margrethe Møller Award
- 2011年 *JBC* Herbert Tabor Award
- 2013年 日本生化学会奨励賞

競争的資金獲得状況

1. 武田科学振興財団 生命科学研究助成
『胃酸分泌の分子メカニズム解明と新規薬剤開発の為に構造基盤』
研究代表者
2018年11月～2021年3月
2. 科学研究費補助金 基盤研究(B)
『胃プロトンポンプの構造生理学研究』
研究代表者
2017年4月～2021年3月
3. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構
創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
『クライオ電子顕微鏡のフィードバックに基づく膜タンパク質複合体の生産と技術支援』
研究分担者 (代表: 大嶋篤典)
2017年4月～2022年3月
4. 科学研究費補助金 基盤研究(S)
『チャンネルを中心とした構造生理学的研究』

研究分担者（代表：藤吉好則）
2015年4月～2020年3月

5. 戦略的創造研究推進事業・CREST

『細胞膜におけるリン脂質の非対称分布とその崩壊』

主たる共同研究者（代表：長田重一）

2014年10月～2020年3月

6. 科学研究費補助金 若手研究(A)

『最大級のイオン濃度勾配を形成する胃プロトンポンプ作動機構の解明』

研究代表者

2014年4月～2017年3月

7. 創薬等支援技術基盤プラットフォーム・解析拠点・相関構造解析業務

『多様な顕微鏡技術による膜タンパク質複合体の多階層での機能構造研究』

分担研究者（代表：Gerle Christoph）

2012年10月～2017年3月

8. 科学研究費補助金 研究活動スタート支援

『電子線結晶学と酵素化学的研究に基づいた胃プロトンポンプのユニークな作動機構の解明』

研究代表者

2012年10月～2014年3月