

2006年6月23日

独立行政法人 理化学研究所
独立行政法人 科学技術振興機構

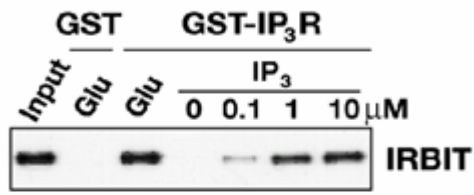
細胞内のカルシウムチャンネルに情報伝達を邪魔する“偽結合体”を発見

- IP₃受容体にIP₃と競合して結合するタンパク質「アービット」の機能を解明 -

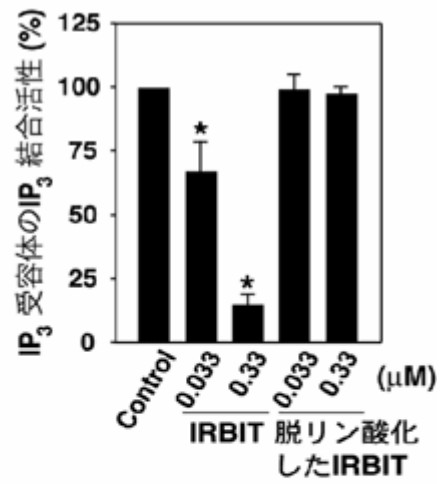
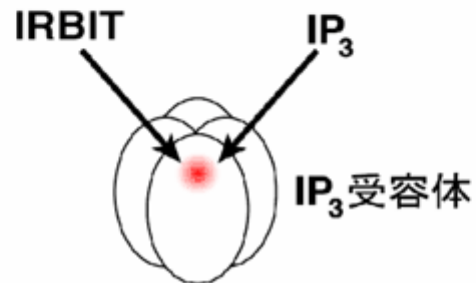
細胞分裂、細胞死、受精、発生など、私たちの生の営みそのものに関わる情報伝達は、細胞内のカルシウムイオンの放出によって行われています。しかし、このカルシウムの放出が行われる仕組みには未知の部分が多く、多くのライフサイエンスの研究者がその解明に尽力してきました。

今回、理研脳科学総合研究センター発生神経生物研究チームらは、このカルシウムイオン放出を邪魔するように働くユニークな制御機構を発見しました。通常、細胞内ではイノシトール三リン酸 (IP₃) がIP₃受容体に結合することでカルシウムイオンが放出されます。ところが、これまで機能がわかっていなかった「IRBIT」(アービット) というタンパク質がIP₃を真似てIP₃受容体に結合することがわかりました。しかも、その際、カルシウムイオンは放出されません。つまり、アービットはIP₃の働きを邪魔をしているといえます。

この発見によって、細胞内での情報伝達の仕組みの解明に新たな一歩が踏み出されたといえます。

A

IP₃の添加により
IRBITはIP₃受容体より
解離する

B**C**

(図) IP₃とIRBIT (アービット) がIP₃受容体に競合して結合する様子

2006年6月23日

独立行政法人 理化学研究所
独立行政法人 科学技術振興機構

細胞内のカルシウムチャンネルに情報伝達を邪魔する“偽結合体”を発見

- IP₃受容体にIP₃と競合して結合するタンパク質「アービット」の機能を解明-

◇ポイント◇

- ・タンパク質「アービット」がIP₃受容体に結合し、活性化を抑制
- ・アービットはIP₃を真似てIP₃受容体に結合
- ・カルシウムチャンネルの情報伝達の新たな経路が存在する可能性も

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）と独立行政法人科学技術振興機構（JST、沖村憲樹理事長）は、外部からの刺激信号を受けとり、細胞分裂や受精に深く関与している細胞内カルシウムチャンネルの作用を邪魔するように働くユニークな制御機構の解明に成功しました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）発生神経生物研究チーム及びJST発展研究カルシウム振動プロジェクトの研究代表者である御子柴克彦チームリーダー（東京大学医科学研究所教授）、安東英明研究員、水谷顕洋研究員らの研究グループによる研究成果です。

細胞の外からの刺激を受けて細胞内ではシグナル伝達分子であるイノシトール三リン酸（IP₃）が産生され、細胞内カルシウム貯蔵庫の膜上にあるIP₃受容体に結合して、さまざまな生理現象に関与するカルシウムイオンの放出を誘導し、細胞分裂、細胞死、受精、発生などの引き金となります。一般に、このように特異的に結合する物質「リガンド」（この場合はIP₃）が、その受容体（IP₃受容体）に作用して生理応答を引き起こす現象は、生命にとって必要不可欠な情報伝達の基本原理となっています。

今回研究グループは、これまで機能がわかっていなかった「IRBIT（アービット）」というタンパク質がIP₃と対立して働き、IP₃受容体の活性化を抑制するという新しい機能を持っていることを発見しました。具体的にはアービットがIP₃受容体上のIP₃の結合する箇所に、IP₃と非常に似かよった方法で結合し、IP₃がIP₃受容体に結合するのを妨げます。すなわちアービットはIP₃を真似てIP₃受容体に結合してもIP₃受容体を活性化はせず、邪魔をしていたのです。本物のリガンドであるIP₃がIP₃受容体に結合するのを妨げる“偽リガンド”として機能していることが明らかになりました。この発見は細胞内情報伝達の巧妙な制御を知る上で大変意義のあるものです。

本研究成果は、米国の科学雑誌『Molecular Cell』6月23日号(オンライン版6月22日)で発表されます。

1. 背景

カルシウムイオンは、細胞内の情報伝達物質として重要な機能をはたしています。通常、細胞内のカルシウムイオンの濃度は細胞外の約1万分の1と極めて低く保たれています。細胞外からの刺激によって産生されるシグナル伝達分子であるイノシ

トール三リン酸 (IP_3) は、細胞内のカルシウムイオン貯蔵庫の膜上にある IP_3 受容体に結合してカルシウムイオン放出を引き起こさせ、細胞内のカルシウムイオンの濃度を上昇させます (図 1)。このカルシウムイオンの濃度変化が、細胞分裂、細胞死、受精、発生などさまざまな細胞応答につながっていきます。一般に、このようにリガンド (この場合は IP_3) が、その受容体 (IP_3 受容体) に作用して生理応答を誘導する現象は、生命にとって必要不可欠な情報伝達の基本原理となっています。

研究グループは、2002 年に IP_3 受容体に結合している新規なタンパク質である「IRBIT」(アービット) を発見しました。興味深いことに、アービットはリガンドである IP_3 が IP_3 受容体に結合すると IP_3 受容体から解離していくことが明らかにされてきました。しかし、アービットが IP_3 によって IP_3 受容体から離れるメカニズムやその意義、さらにアービットの機能は全く分かっていませんでした。

2. 研究手法と成果

今回研究グループは、アービットが IP_3 と対立して働く (拮抗的な作用) ことにより、 IP_3 の IP_3 受容体への結合を阻害し、その結果 IP_3 受容体の活性化を抑制する機能を発揮することを発見しました。さらにそのメカニズムを詳細に解析し、アービットが IP_3 受容体上の IP_3 の結合する場所に、 IP_3 と非常に類似した様式で結合することを明らかにしました。すなわち、アービットは IP_3 を模倣してその活性を阻害する“偽リガンド”として機能していることを明らかにしました。

これまでの研究からアービットは IP_3 受容体の IP_3 結合領域に結合するということが分かっていました。今回、精製したアービットタンパク質と IP_3 受容体タンパク質を用いた試験管内実験 (in vitro での実験) で、アービットが IP_3 によって IP_3 受容体から解離することを確認しました (図 2A)。また、逆にアービットが IP_3 受容体の IP_3 結合を抑制することを見いだしました (図 2B)。これらの結果からアービットと IP_3 は IP_3 受容体上の同じ場所に互いに競合して結合することが明らかとなりました (図 2C)。さらに、アービットが IP_3 受容体と結合し、その IP_3 結合を抑制するためにはアービットのリン酸化が必要であることも分かりました (図 2B)。

研究グループは、これまでに IP_3 受容体の IP_3 結合領域にある 12 個のアミノ酸が IP_3 との結合に必須であることを明らかにしています。これら 12 個のアミノ酸に変異を導入してアービットとの結合に及ぼす影響を調べたところ、12 個のアミノ酸のうち 10 個ものアミノ酸がアービットとの結合に必須であることが分かりました (図 3)。この結果は、 IP_3 とアービットは IP_3 受容体の共通の領域にある共通のアミノ酸を認識して結合していることを示しています。すなわち、アービットは IP_3 と非常に類似した様式で IP_3 受容体と結合することが明らかとなりました。このことは、アービットのある一部分の構造が IP_3 の構造を模倣している可能性があることを示唆することとなりました。

次に、アービットが IP_3 受容体の活性に及ぼす影響を調べました。 IP_3 受容体を含むカルシウム貯蔵庫に、精製したアービットタンパク質を添加すると、 IP_3 の働きによるカルシウム放出が顕著に抑制されました。さらに RNA 干渉法により培養細胞のアービットの発現を減少させると、 IP_3 受容体からのカルシウム放出がおこりやすくなることが分かりました (図 4)。これらの結果から、アービットは IP_3 受容体の活性を抑制することが明らかとなりました。

まとめると、アービットはリン酸化されることにより、 IP_3 受容体の IP_3 結合領域に IP_3 と類似した様式で結合し、普段は IP_3 が IP_3 受容体に結合することを抑制しています。細胞外の刺激により IP_3 の濃度が上昇すると、 IP_3 はアービットを追い出して IP_3 受容体に結合し、カルシウムイオンの放出を誘導します(図5)。IRBITは IP_3 を真似て IP_3 受容体に結合しますが、 IP_3 受容体を活性化せず、それどころか本物のリガンドである IP_3 が IP_3 受容体に結合するのを妨げる“偽リガンド”であると考えられます。

3. 今後の期待

今回の研究成果により、細胞内の情報伝達の巧妙な制御方法の一端が明らかとなりました。アービットが IP_3 受容体に結合し、その活性化を抑制するためにはアービットをリン酸化することが必要です。そのため、アービットをリン酸化するタンパク質リン酸化酵素を明らかにすることにより、さらに精巧な情報伝達のメカニズムが明らかになることが期待されます。またアービットのノックアウトマウスを作製することにより、アービットの個体レベルでの機能が明らかになることが期待されます。

一方、 IP_3 によって IP_3 受容体から解離したアービットが、別の標的タンパク質の活性を制御する可能性が考えられます。この仮説を証明するため研究グループはアービットと結合するタンパク質を探索し、既にいくつかの候補分子を見いだしています。これまで IP_3 の下流には $IP_3 \rightarrow IP_3$ 受容体 \rightarrow カルシウムという経路しか存在しないと考えられていましたが、この経路とは別に $IP_3 \rightarrow IP_3$ 受容体 \rightarrow アービットという経路が存在する可能性が考えられ、従来 of 定説を書き換える研究が期待されます。

さらにアービットがどの程度、 IP_3 の構造を模倣しているかという問題も今後の興味深い研究テーマです。アービットのリン酸化が IP_3 の3つのリン酸基を模倣している可能性が考えられます。これは、例えばある種の昆虫が葉や枝の形を真似る擬態という現象がタンパク質レベルでも起こりえること(分子擬態)を示唆しており、分子進化の点からも興味を持たれます。アービットと IP_3 受容体との複合体の結晶構造を解くことにより、アービットと IP_3 の構造上の類似点が明らかになることが期待されます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 発生神経生物研究チーム

チームリーダー 御子柴 克彦

Tel : 048-467-9745 / Fax : 048-467-9744

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

独立行政法人科学技術振興機構

戦略的創造事業本部特別プロジェクト推進室

調査役 黒木 敏高

Tel : 048-226-5623 / Fax : 048-226-5703

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

独立行政法人科学技術振興機構 総務部広報室

Tel : 03-5214-8404 / Fax : 03-5214-8432

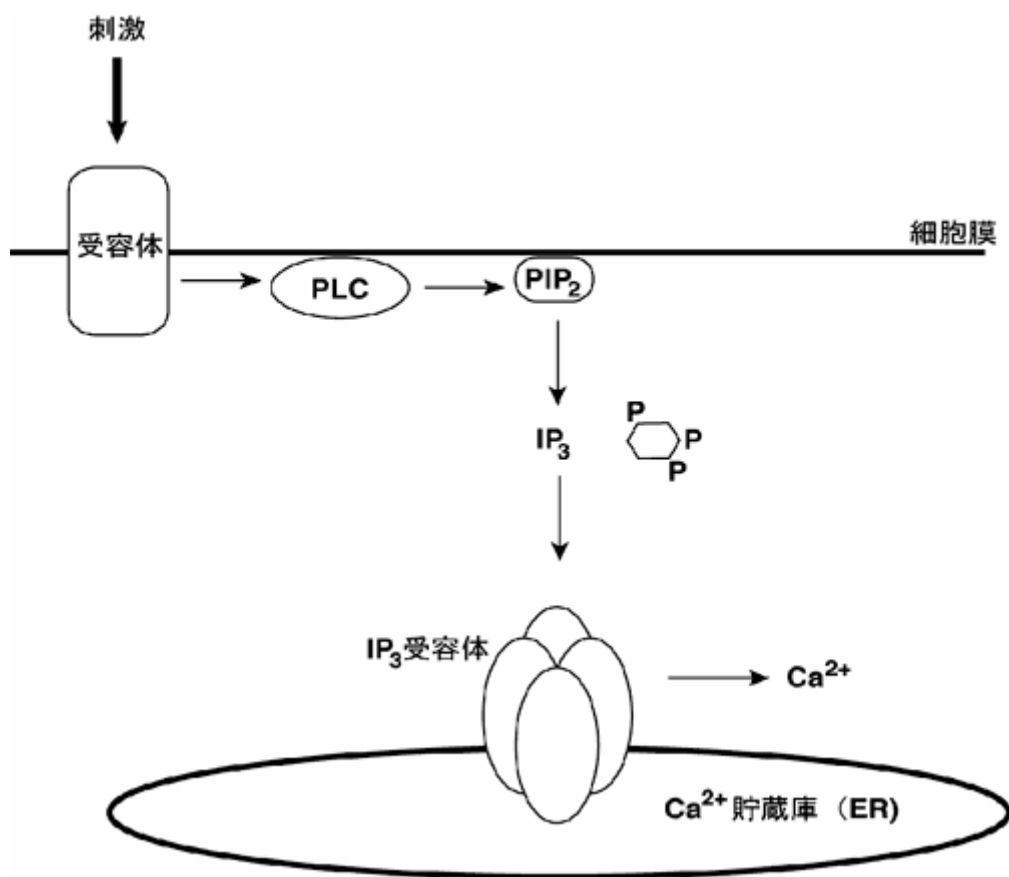


図1 IP₃-カルシウム情報伝達系

細胞外からの刺激により、細胞質でIP₃が産生される。IP₃が細胞内カルシウム貯蔵庫 (ER) の膜上のIP₃受容体に結合すると、IP₃受容体が活性化し、ER内から細胞質へカルシウムが放出される。IP₃はイノシトール環に3つのリン酸基 (P) がついた構造をしている。

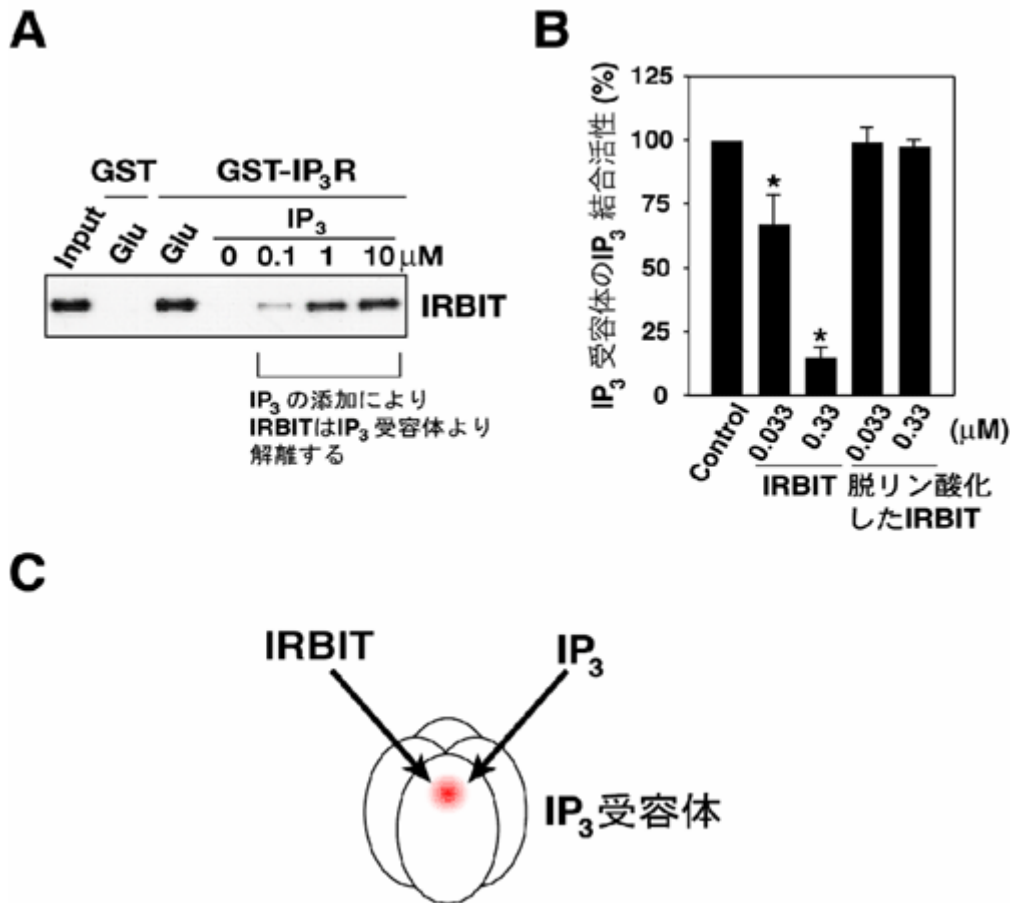


図2 アービット (IRBIT) とIP₃はIP₃受容体上の同じ領域に競合して結合する

(A) IP₃受容体にアービット(IRBIT)を結合させた後、IP₃を添加し、IP₃受容体から解離してきたアービットを抗アービット抗体で検出した。黒いバンド(線)がIP₃受容体から解離してきたアービットを示している。(B) アービット(IRBIT)はIP₃受容体のIP₃結合活性を抑制した。また、アービットを脱リン酸化処理すると、抑制活性がなくなることから、受容体との結合にはアービットのリン酸化が必要であることが分かる。(C) アービットとIP₃はIP₃受容体の共通の領域(赤)に互いに競合して結合する。

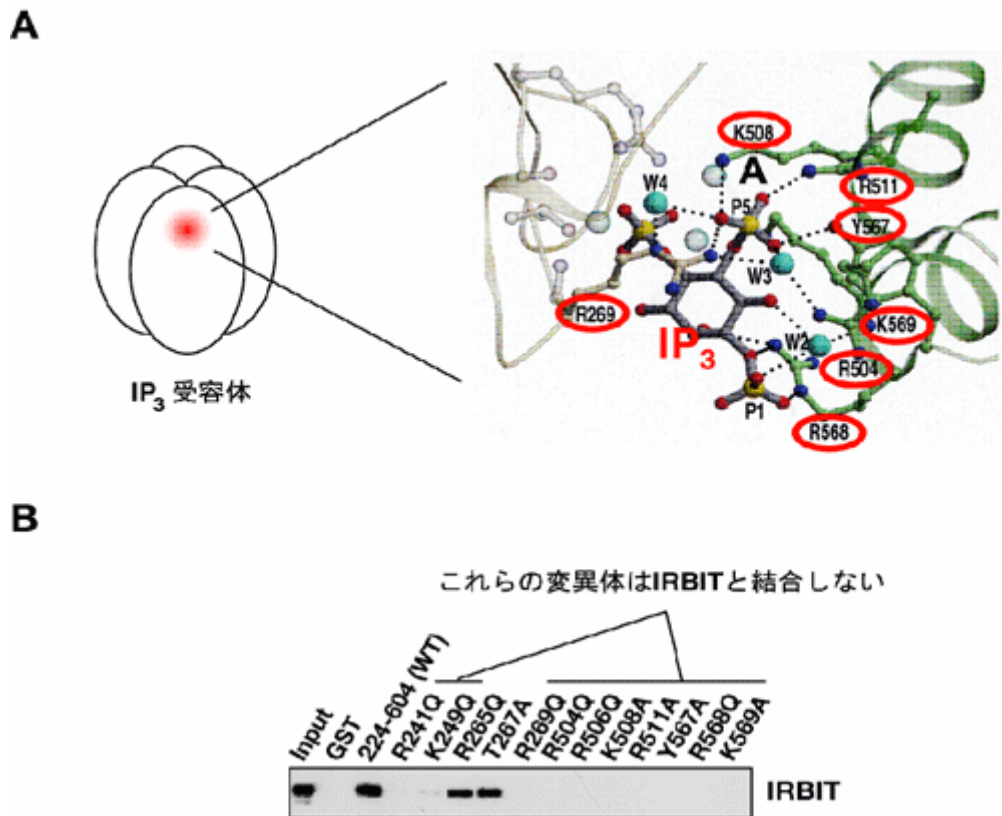


図 3 アービット(IRBIT)はIP₃と共通のアミノ酸を認識してIP₃受容体と結合する

(A) IP₃受容体のIP₃結合領域の結晶構造の模式図 (Bosanacら、Nature、2002年)。IP₃受容体におけるIP₃結合領域のいくつかのアミノ酸は、IP₃結合領域との結合に重要な役割を果たしている。(B) IP₃結合に関わるIP₃結合領域の12個のアミノ酸に変異を導入し、アービット (IRBIT) との結合を調べた。抗アービット抗体で検出して黒いバンド (線) が見えた変異体はアービットと結合したことを示している。ほとんどの変異体はアービットと結合しなかったことがわかる。アービットとIP₃はIP₃結合領域の共通のアミノ酸を認識してIP₃受容体と結合することが示された。

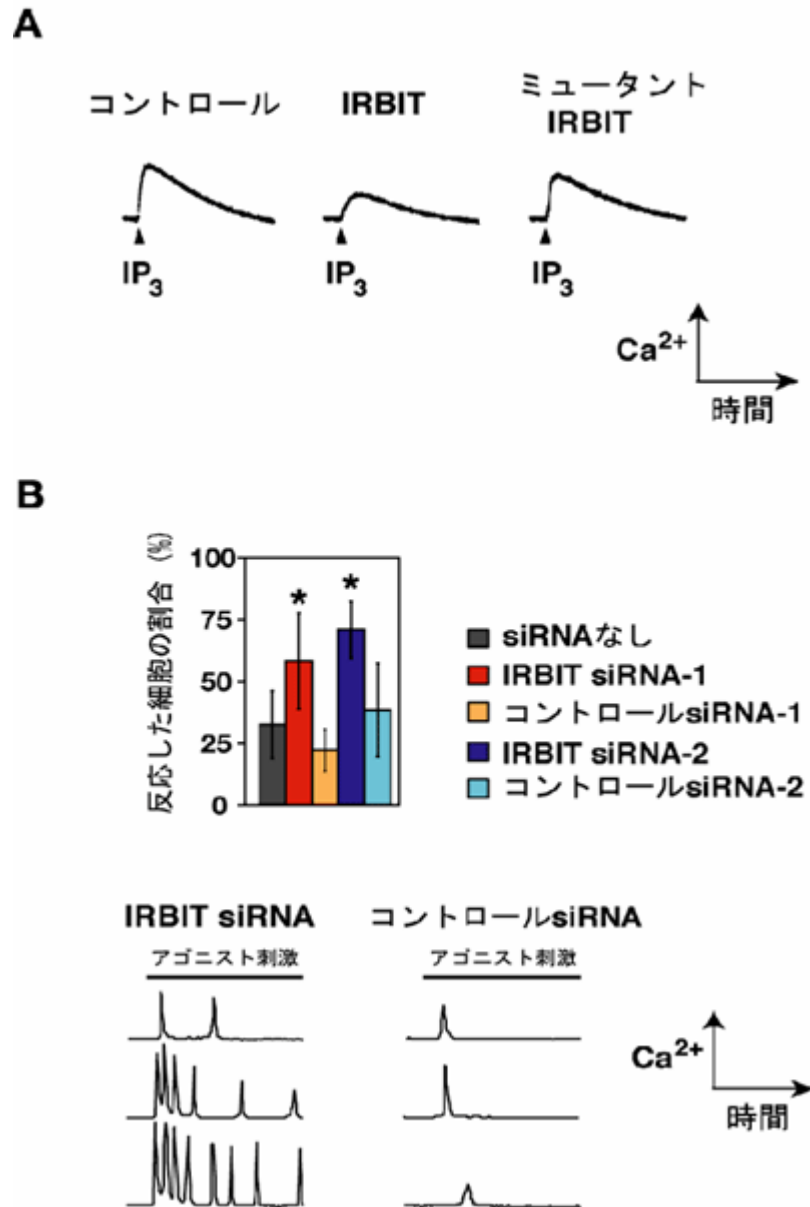


図4 アービット (IRBIT) はIP₃受容体の活性を抑制する

(A) 精製したアービット (IRBIT) タンパク質は、IP₃によるカルシウム放出を抑制した。リン酸化部位に変異を導入し、IP₃受容体に結合しないアービットは抑制効果がなかった。(B) 培養細胞のアービットの発現をRNA干渉法で抑制すると、アゴニスト刺激※1によってカルシウム放出を起こす細胞の割合が増えた。また繰り返しカルシウムが放出されるようになった。

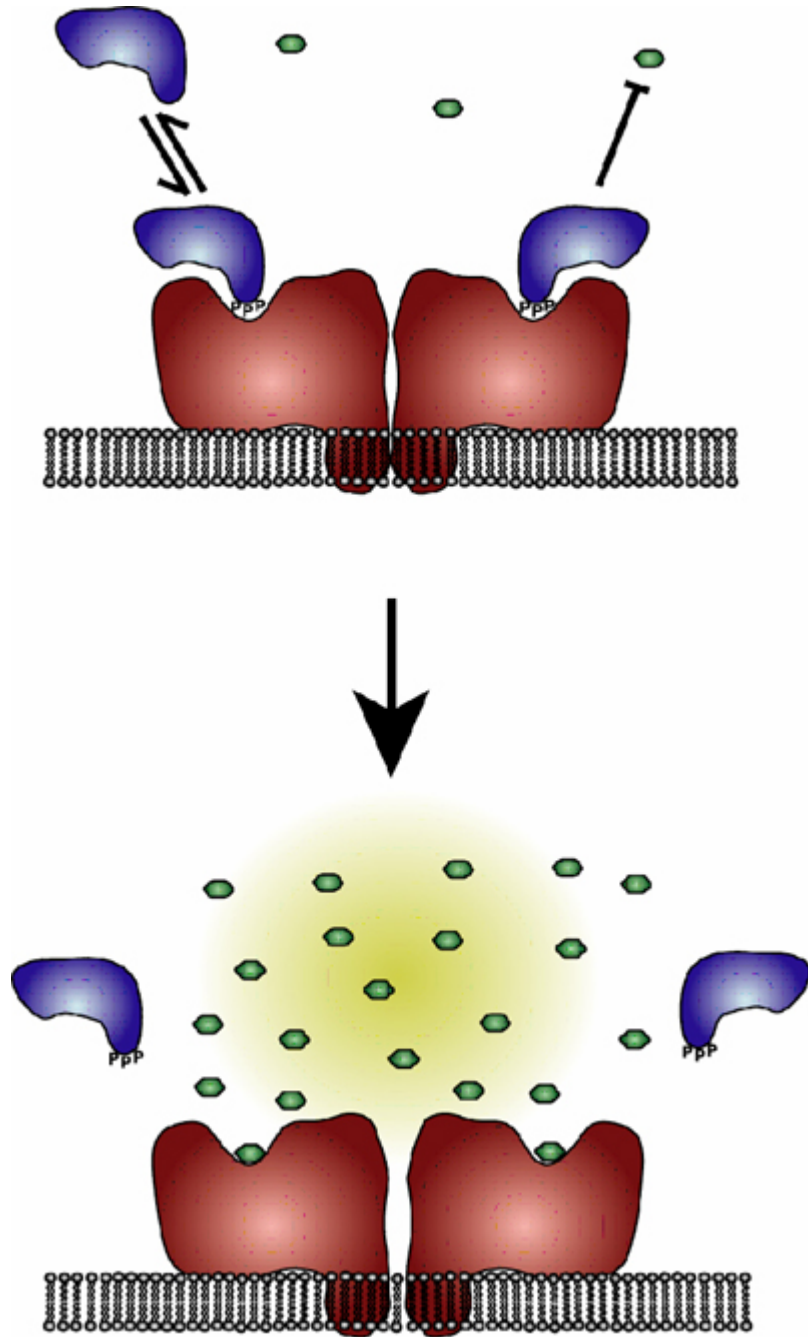


図5 アービット (IRBIT) の機能

(上) リン酸化されたアービット (青) は IP_3 受容体 (赤) の IP_3 結合領域に結合している (Pはリン酸化されていることを示している)。 IP_3 (緑) の濃度が低いときは、アービットは IP_3 受容体への IP_3 の結合を阻害することにより、 IP_3 受容体の活性化を抑制している。(下) アゴニスト刺激により大量の IP_3 が産生されると、 IP_3 は競合的にアービットを追い出して IP_3 受容体に結合する。その結果 IP_3 受容体が活性化し、カルシウム (黄) の放出がおこる。

<補足説明>

※1 アゴニスト刺激:細胞外からの生理活性物質(ホルモン、神経伝達物質など)による刺激。細胞膜の受容体に結合することにより、細胞内の情報伝達を活性化する(図1の「刺激」に相当)。