

2024 年 5 月 22 日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

シグナル欠損細胞を用いて解き明かされる 複雑な細胞内シグナル伝達の全容

【発表のポイント】

- シグナル伝達因子を欠損させた培養細胞を用いた研究成果を網羅し、複雑に交差する細胞内シグナル伝達の理解にどのように役に立ってきたか、これまでの研究を概説しました。
- シグナル因子欠損細胞を応用することで、GPCR シグナルを制御する新たな薬理的ツールの開発アプローチを提唱しました。

【概要】

Gタンパク質共役型受容体（GPCR）^{（注1）}は細胞膜表面に存在するセンサータンパク質であり、オピオイド系鎮痛薬、抗ヒスタミン薬、抗精神病薬など、現在市販されている多くの医薬品の標的となっています。

GPCRは、細胞膜の内側に存在する多数のシグナル伝達因子^{（注2）}を活性化することで細胞内へシグナルを伝達します。しかし数多くのシグナル伝達因子が複雑なネットワークを形成しており、その詳細な解析は困難でした。

東北大学大学院薬学研究科の齋藤郁貴大学院生、木瀬亮次特任助教、井上飛鳥教授らによる研究グループは特定のシグナル経路に関わる複数の遺伝子を同時に欠損した培養細胞を樹立してきました。しかしながら、これらの遺伝子欠損細胞を応用した最先端の研究報告を概説した総説はありませんでした。

本研究グループは、GPCRのシグナル伝達因子の遺伝子欠損培養細胞を用いた研究について、これまでの研究報告を網羅した総説論文を発表しました。本総説論文では、CRISPR-Cas9法による遺伝子欠損培養細胞の作製方法、これまでに樹立されている遺伝子欠損培養細胞株を概説しました。また、これらの培養細胞株を用いた最新の研究を概説しました。本論文により、今後の遺伝子欠損細胞を応用したGPCRの研究が加速し、GPCRの複雑なシグナルネットワークの解明が進むことが期待されます。

本研究成果は、2024年5月8日付（日本時間）で薬理学分野の専門誌 *Pharmacological Reviews* のオンライン版に掲載されました。

今回の取り組み

GPCR を介したシグナル伝達は、ヘテロ三量体 G タンパク質^(注3) や GPCR キナーゼ (GRK)^(注4)、 β アレスチン^(注5) など多数のシグナル伝達因子を活性化することで担われていることが知られています (図 1)。本研究グループは、ゲノム編集技術のひとつである CRISPR-Cas9 法^(注6) を用いて、GPCR のシグナル伝達因子を欠損させた細胞を多数作製してきました (図 2)。これらの細胞を用いた研究から、GPCR シグナルにおける β アレスチンを介したシグナル伝達、 $G\alpha$ タンパク質の選択的活性化、GRK による GPCR 活性の調節などを明らかにしてきています。本総説論文では、これらの最先端の研究報告を含め、遺伝子欠損培養細胞によって明らかにされたシグナル伝達因子の新たな機能や十数種類に及ぶ遺伝子欠損培養細胞の詳細な情報を解説しました。さらに、遺伝子欠損培養細胞を用いた、疾患に関与するシグナル伝達因子の機能解析 (図 3) や新たな薬理的ツールの開発へのアプローチを提唱しました。

今後の展開

本総説論文により、遺伝子欠損細胞を利用した解析が進展することで、GPCR の研究が今後さらに加速することが期待されます。また、より多くのシグナル伝達因子を欠損した細胞の作製や異なる性質を示す培養細胞株で遺伝子欠損細胞を樹立することによって、GPCR のシグナル伝達因子が関与する疾患の機構の解明につながり、科学の進歩に貢献することが期待されます。

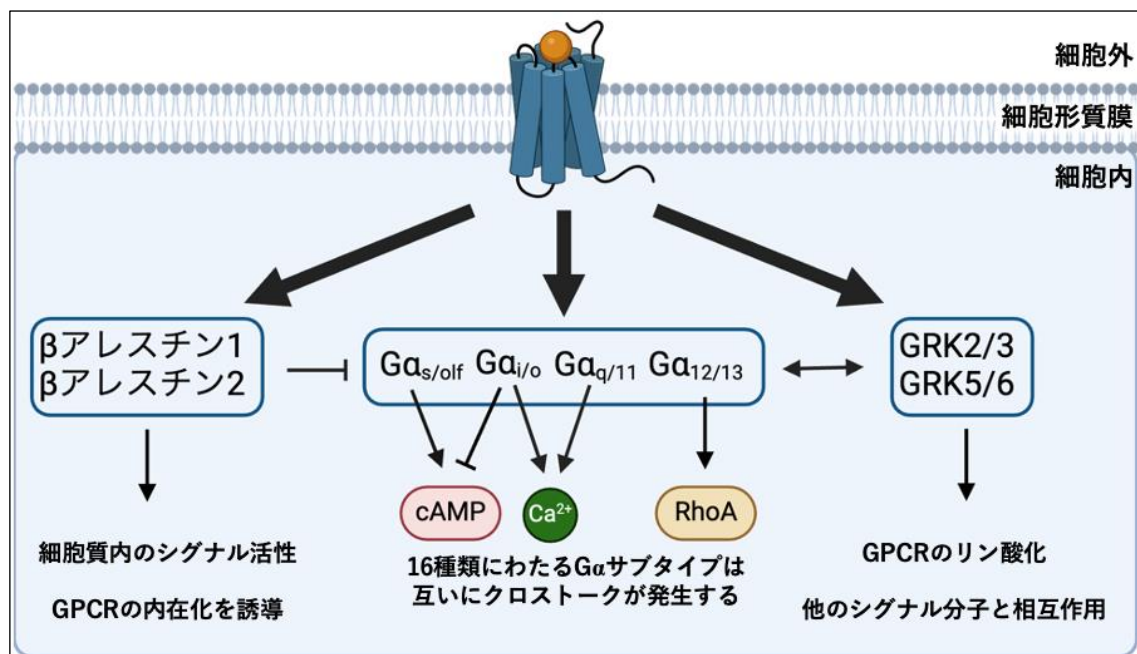


図 1. 複数のシグナル伝達因子を介した GPCR のシグナルネットワーク。
主要な GPCR のシグナル伝達因子には $G\alpha$ タンパク質、 β アレスチン、GRK の

3種類が含まれる。G α タンパク質は4つのサブファミリーに大別される16種類のサブタイプが存在し、それぞれのサブタイプが誘導するシグナルの性質は異なる。 β アレスチンはGPCRを細胞内に内在化することで、シグナル伝達機能を減弱（脱感作）させる役割を担うことに加えて、足場タンパク質として別のシグナル因子と結合して、シグナル伝達を誘導する。GRKはGPCRをリン酸化し、アレスチンがGPCRと結合しやすくする機能を有すると共に、細胞内の他のシグナル伝達因子と相互作用する。このようにして、多くのシグナル伝達因子から構成されるGPCRのシグナルネットワークは互いに影響し合い、多様な細胞応答をもたらす。

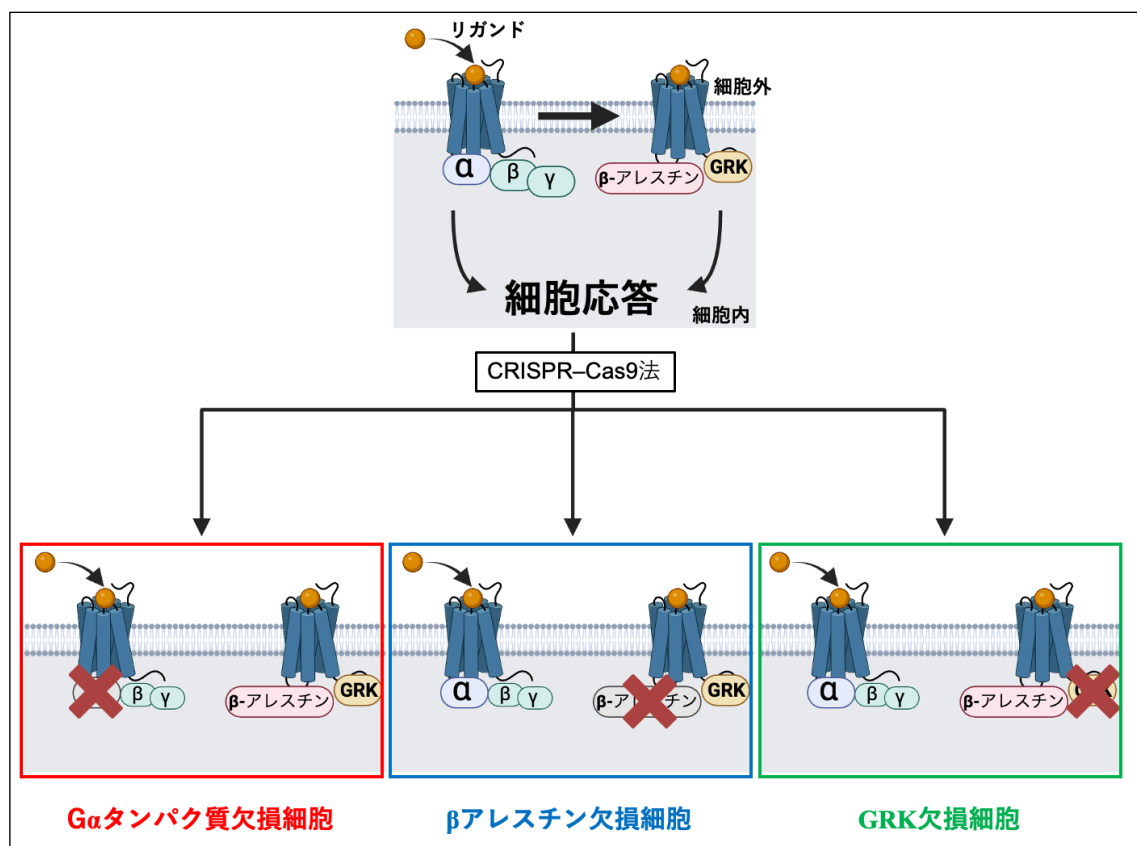


図 2. CRISPR-Cas9 法によるシグナル伝達因子欠損培養細胞株の作製

GPCR は三量体 G タンパク質、 β アレスチン、GRK などのシグナル伝達因子を介してシグナル伝達やその調節を行っている。これらの因子（いずれも細胞が産生するタンパク質であり、核内の DNA に遺伝子としてコードされる）の遺伝子を欠損させた培養細胞が作製可能である。これらの細胞を用いて、シグナル解析を行うことで、個々のシグナル伝達因子の細胞応答の役割を正確に評価できる。

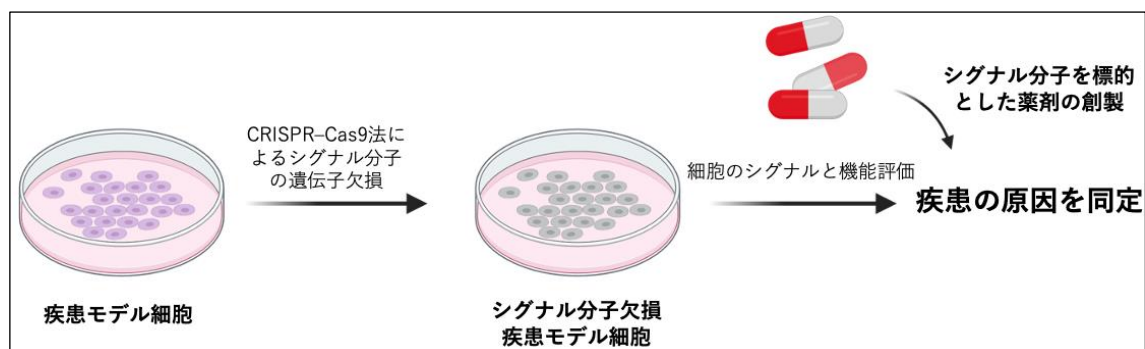


図 3. シグナル伝達因子欠損細胞の創薬への応用

疾患モデル細胞のシグナル伝達因子を欠損させた細胞を作製し、そのシグナル伝達因子の機能評価を行うことができる。このようなシグナル伝達因子の機能評価は新たな薬剤の創製に貢献することが期待される。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会（JP21H04791, JP21H05113, JP22J10475, JPJSBP120213501, JPJSBP120218801）、科学技術振興機構（JPMJFR215T, JPMJMS2023）、日本医療研究開発機構（JP22ama121038, JP22zf0127007）など、多くの支援を受けて実施されました。

【用語説明】

- 注1. Gタンパク質共役型受容体（GPCR）：7回膜貫通型の構造の特徴を有する膜タンパク質であり、細胞外に存在する特定の物質（リガンド）と結合することで、細胞内に情報を伝達する。ヒトには約800種類が存在し、既存薬の約3割がいずれかのGPCRに結合して、薬効を発揮することが知られる。
- 注2. シグナル伝達因子：本総説論文では、GPCRに直接結合し、GPCRの細胞内シグナル伝達を制御するタンパク質を指す（別名、トランスデューサー）。特に、ヘテロ三量体Gタンパク質、GPCRキナーゼ（GRK）、およびβアレスチンを指す。
- 注3. ヘテロ三量体Gタンパク質：α、β、γの3つのサブユニットから構成される細胞内のシグナル伝達因子。ヘテロ三量体Gタンパク質がリガンドにより活性型構造となったGPCRと相互作用すると、αサブユニットとβγサブユニットに解離し、下流のシグナルを誘導する。
- 注4. Gタンパク質共役型キナーゼ（GRK）：細胞内に存在し、GPCRのリン酸化を担うセリン/スレオニンキナーゼ。GRKには7つのサブタイプが存在し、主にGPCRの脱感作を制御する。
- 注5. アレスチン（βアレスチン、ベータアレスチン）：細胞質に存在する

GPCR のシグナル伝達調節因子。アレスチンはリン酸化を受けた GPCR と結合し、GPCR の内在化を誘導することで、シグナルの脱感作を制御する。また、足場タンパクとしても機能し、アレスチンを起点とした多様なシグナル伝達を誘導する。

注6. CRISPR-Cas9 法：バクテリアや他の生物がウイルスなどの外来遺伝子に対抗するために進化させた免疫系を利用した遺伝子改変手法。細胞の特定の遺伝子（DNA 配列）を切断し、細胞が有する DNA 修復機構を利用して遺伝子配列を改変することで特定の遺伝子の機能を欠失させることができる。

【参考文献】

1. Inoue et al., Cell 2019
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2019/05/press20190531-01-genri.html>
2. Kawakami et al., Nat Commun 2022
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2022/02/press20220210-03-signal.html>

【論文情報】

タイトル：Generation of comprehensive GPCR-transducer-deficient cell lines to dissect complexity of GPCR signaling

日本語タイトル：網羅的な GPCR トランスデューサー欠損細胞株を用いて解明されてきた複雑な GPCR のシグナル伝達経路

著者：Ayaki Saito¹, Ryoji Kise^{1,*}, Asuka Inoue^{1,*}

¹ 東北大学大学院 薬学研究科

*責任著者：東北大学 大学院薬学研究科 特任助教 木瀬 亮次、同教授（京都大学 大学院薬学研究科 教授 併任）井上飛鳥

掲載誌：Pharmacological Reviews

DOI：<https://doi.org/10.1124/pharmrev.124.001186>

URL:

<https://pharmrev.aspetjournals.org/content/early/2024/05/07/pharmrev.124.001186>

【問い合わせ先】

（研究に関すること）

東北大学大学院薬学研究科

教授 井上飛鳥

TEL: 022-795-6861

Email: iaska@tohoku.ac.jp

（報道に関すること）

東北大学大学院薬学研究科・薬学部 総務係

TEL: 022-795-6801

Email: ph-som@grp.tohoku.ac.jp