

2025年8月5日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学  
国立大学法人京都大学  
振興機構 (JST)

## 細胞の情報伝達を制御する足場脂質

—アレスチンと膜脂質の協調作用による受容体の細胞内取り込み機構—

### 【発表のポイント】

- 細胞表面の受容体の取り込みを担うアレスチン<sup>(注1)</sup>が機能性膜脂質ホスファチジルイノシトール 4,5-ニリン酸 (PIP<sub>2</sub>)<sup>(注2)</sup>と結合する新たな部位を見出しました。
- アレスチンと PIP<sub>2</sub> の結合により、細胞膜の微小領域が形成され、ここに受容体を局在させることにより、効率的に細胞内へ受容体を取り込む機構を解明しました。
- この成果は、PIP<sub>2</sub> とアレスチンの結合を標的とすることで、過剰な細胞内情報伝達が原因となる疾患に対する新たな創薬戦略につながることを期待されます。

### 【概要】

細胞は G タンパク質共役型受容体 (GPCR)<sup>(注3)</sup> と呼ばれる細胞表面のセンサータンパク質を用いて、外界からの情報分子を細胞内に伝えます。この情報伝達の効率を調節する重要な仕組みの一つに、GPCR の細胞内への取り込み (内在化<sup>(注4)</sup>) による情報伝達の収束があり、アレスチンというタンパク質がその役割を担います。アレスチンが GPCR と結合する際に、機能性膜脂質である PIP<sub>2</sub> が関わるということが報告されていますが、その詳細な分子機構は不明な点が多く残されていました。

東北大学大学院薬学研究科の倉本律輝大学院生・井上飛鳥教授 (京都大学大学院薬学研究科教授を兼務) らの研究グループは、アレスチンが PIP<sub>2</sub> と結合する新たな部位を見出し、この結合によって GPCR を PIP<sub>2</sub> が多く含まれる細胞膜の微小領域に集積させることで、GPCR の内在化を促進させることを明らかにしました。本研究の知見は特定のタンパク質と膜脂質を標的とした創薬の新たな可能性を提唱します。

本研究成果は、2025年8月6日付けで科学誌 Nature Chemical Biology に掲載されます。

## 【詳細な説明】

### 研究の背景

私たちの体の中では、外界からの刺激に応じてさまざまな情報が細胞に伝えられ、それに基づいた反応が起こります。このような情報伝達の多くは形質膜<sup>(注5)</sup>に存在するGタンパク質共役型受容体(GPCR)と呼ばれる受容体タンパク質を介して行われます。GPCRはホルモンや神経伝達物質などのリガンド<sup>(注6)</sup>を受け取ると、その情報を細胞の内部に伝え、細胞が適切に応答するよう導きます。一方で、情報伝達がいつまでも続くと細胞にとって不都合なため、これを適切なタイミングで止める仕組みも備わっています。その代表的なものが、GPCRが細胞内へと取り込まれる内在化と呼ばれる機構です。GPCRの内在化には細胞質に存在するアレスチンというアダプタータンパク質が主要な役割を担います。アレスチンはリガンドと結合したGPCRを認識し、細胞質から形質膜に移行します。GPCRと結合したアレスチンは、GPCRを形質膜上の特定の領域に集積させることでGPCRの内在化を引き起こします。

これまでの研究において、アレスチンはGPCRと結合するだけでなく、形質膜にある脂質とも結合することが知られています。特に、ホスファチジルイノシトール4,5-ニリン酸(PIP<sub>2</sub>)と呼ばれる脂質は、アレスチンとGPCRの結合を増強させることが報告されています(図1)。しかし、アレスチンがGPCRを集積させ、GPCRを内在化させる機構において、PIP<sub>2</sub>とアレスチンでどのような相互作用の仕組みが働いているのかについて、これまで明らかにされていませんでした。

### 今回の取り組み

東北大学大学院薬学研究科の倉本律輝大学院生と井上飛鳥教授(京都大学大学院薬学研究科教授を兼務)の研究グループはアレスチンとPIP<sub>2</sub>の相互作用を詳細に解析し、GPCRとアレスチンが膜上で集積する機構の解明に取り組みました。アレスチンとPIP<sub>2</sub>の結合はアレスチンの表面にある正の電荷を帯びた部分とPIP<sub>2</sub>が持つ負の電荷との間で起こる電気的な引き合い(静電相互作用<sup>(注7)</sup>)が大きく寄与します。アレスチンの構造にはPIP<sub>2</sub>が結合することが知られていたポケット部位(Cサイト)の他に、正電荷を帯びた部位が存在することに注目し、PIP<sub>2</sub>が結合する可能性を想定しました。

この仮説を検証するため、研究グループは分子動力学シミュレーション<sup>(注8)</sup>を用いて、PIP<sub>2</sub>とアレスチンがどのように結びつくか、分子レベルでその動きを詳しく解析しました。分子動力学シミュレーションは、タンパク質や脂質などの分子がどのように動き、互いに影響を及ぼすかを計算機上で再現します。この手法を用いることで、細胞内では直接観察することが困難な複雑な分子のふるまいを可視化することができます。このシミュレーションには、アレスチンの研究の代表的なモデルGPCRである2型バソプレシン受容体(V2R)<sup>(注9)</sup>

を用い、アレスチンとの複合体を PIP<sub>2</sub> 含有脂質二重層に埋め込み、分子動力学シミュレーションを実行しました。その結果、PIP<sub>2</sub> はこれまで知られていた結合部位に加えて、アレスチンの別の領域にも結合することが分かりました (図 1)。本研究グループは、既存の結合部位を C サイト、新規結合部位を NC サイトと命名しました。

次に、GPCR が内在化するにはアレスチンと GPCR が形質膜上の同じ微小領域に局在する必要がある点に着目し、アレスチンと GPCR の集積における PIP<sub>2</sub> の関与を解析するため、細胞内一分子イメージング<sup>(注10)</sup> による解析を行いました (図 2)。この実験手法では、アレスチン、V2R、そして PIP<sub>2</sub> と特異的に結合するタンパク質の PIP<sub>2</sub> プローブの 3 種類を、それぞれ別々の蛍光色素で標識し、これらの分子の形質膜での微細な挙動を高精度 (数十ナノメートル) に観察できます。また、C サイトと NC サイトの PIP<sub>2</sub> 認識に関わるアミノ酸残基を変異させたアレスチンの挙動を、野生型<sup>(注11)</sup> アレスチンと比較することで、C サイトと NC サイトの役割を明らかにできます。この手法を用いて、リガンド刺激前後の分子の動きを同時にリアルタイムで追跡したところ、野生型または C サイト変異体<sup>(注12)</sup> アレスチンを発現させた細胞では、リガンド刺激によって V2R や PIP<sub>2</sub> が形質膜上の限られた領域 (膜ドメイン<sup>(注13)</sup>) に集まり、アレスチンが制限された動きのパターンをとることが観察されました (図 3)。

一方、NC サイト変異体アレスチンを発現させた細胞では、V2R や PIP<sub>2</sub> が膜ドメインに集まりにくいことが分かりました。これらの観察結果は、アレスチンの NC サイトが PIP<sub>2</sub> と相互作用することで、膜上に PIP<sub>2</sub> が局所的に集まった領域 (PIP<sub>2</sub> ドメイン) を形成し、そこに V2R とアレスチンの複合体を集積させる機構の存在を示唆しています。そこで、この PIP<sub>2</sub> ドメインに、実際に V2R が集積しているのかを確かめるため、V2R と PIP<sub>2</sub> の共局在を定量的に解析しました。その結果、野生型アレスチンまたは C サイト変異体アレスチンを発現させた細胞では、リガンド刺激によって V2R は PIP<sub>2</sub> が共局在していました。これは、活性化された V2R が PIP<sub>2</sub> ドメインに集積していることを示しています。一方、NC サイト変異体アレスチンを発現させた場合には、このような分子の集まりは起こらず、V2R と PIP<sub>2</sub> の共局在も低いレベルにとどまりました。これらの結果から、アレスチンの NC サイトは PIP<sub>2</sub> ドメインの形成を促進し、ここへ V2R とアレスチンの複合体を集めているという機構が支持されました。

さらに本研究グループは V2R の PIP<sub>2</sub> ドメインへの集積は、効率的な内在化につながると考えました。そこで、アレスチンの NC サイト変異によって V2R の内在化効率がどれほど変化するか評価しました。この実験では、アレスチン欠損細胞にアレスチンと V2R を発現させ、細胞表面にある V2R を標識し、リガンド刺激によって細胞内に取り込まれる V2R を測定しました。その結果、野生型および C サイト変異体のアレスチンを発現させた細胞においては、リガンド刺激により細胞表面の V2R 量が速やかに減少し、内在化が促進されているこ

とが分かりました。

一方、NC サイト変異体アレスチン発現細胞では、細胞表面の V2R 量の減少が小さく、内在化の進行が抑制されていることが分かりました。これらの結果は、アレスチンの NC サイトが V2R と PIP<sub>2</sub> の集まりを助け、膜上で内在化を促進する“場”をつくることで、リガンド結合により活性化した GPCR をシャットオフする重要な働きを支えていることを示しています。NC サイトはアレスチンが果たす機能の中でも、特にこの“集めてまとめる”役割を担っていると考えられます（図 4）。

### **今後の展開**

今回の研究で明らかになった、アレスチンの NC サイトによる PIP<sub>2</sub> 依存的な GPCR の内在化制御は、細胞内情報伝達が過剰に持続することで発症する疾患の治療戦略に新たな可能性をもたらします。我々の体の恒常性は、細胞の情報伝達が適切なバランスをとることで成り立っていますが、この情報伝達が過剰に続くと、慢性疼痛や心不全、うつ病、喘息など、さまざまな病態の原因となります。本研究で示されたようにアレスチンと PIP<sub>2</sub> の結合を調節することで、GPCR の内在化を促進し、情報伝達を適切なタイミングで終結させることができます。これにより、GPCR 情報伝達の過剰活性化を抑え、これらの疾患の制御に役立つ可能性があります。今後、この相互作用を標的とした化合物の開発や、PIP<sub>2</sub> の膜分布を操作する技術開発を進めることで、これらの疾患に対する新しい治療戦略へとつながることが期待されます。

## 【説明図】

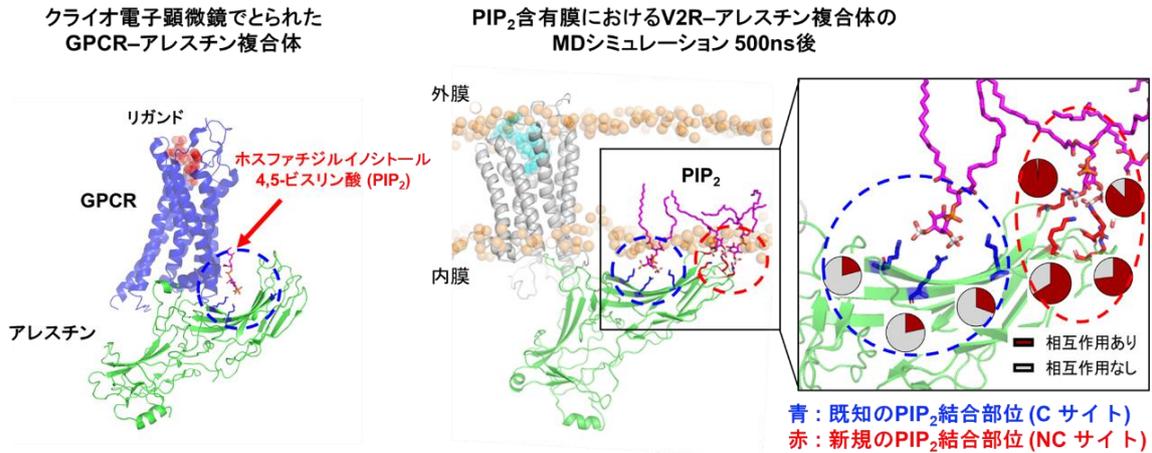


図 1 アレステンと PIP<sub>2</sub> の結合の解析

(左図) 以前の構造研究 (PDB ID: 6UP7) において、GPCR とアレステンの間に結合する PIP<sub>2</sub> 分子が観察された。この PIP<sub>2</sub> はアレステンの 3 カ所の塩基性アミノ酸残基によって認識される。

(右図) 今回の研究では V2R-アレステン複合体構造をモデルとして PIP<sub>2</sub> を含有した脂質二重層における分子動力学シミュレーションを行った。500 ナノ秒のシミュレーションを行った結果、アレステン上の既知の結合部位 (C サイト) に PIP<sub>2</sub> が結合しているだけでなく、4 カ所の塩基性アミノ酸残基からなる別の部位 (NC サイトと命名) にも結合することを見出した。合計 1500 ナノ秒 (500 ナノ秒 x3 回) のうち、各アミノ酸残基と PIP<sub>2</sub> の相互作用の時間を円グラフで表した。C サイトと比べて、NC サイトのアミノ酸残基が長時間 PIP<sub>2</sub> と結合することがわかった。以降の実験で、C サイトと NC サイトへの PIP<sub>2</sub> 結合の役割を調べるため、C サイトの 3 アミノ酸残基または NC サイトの 4 アミノ酸残基をグルタミン残基に置換したアレステン変異体を用いた。

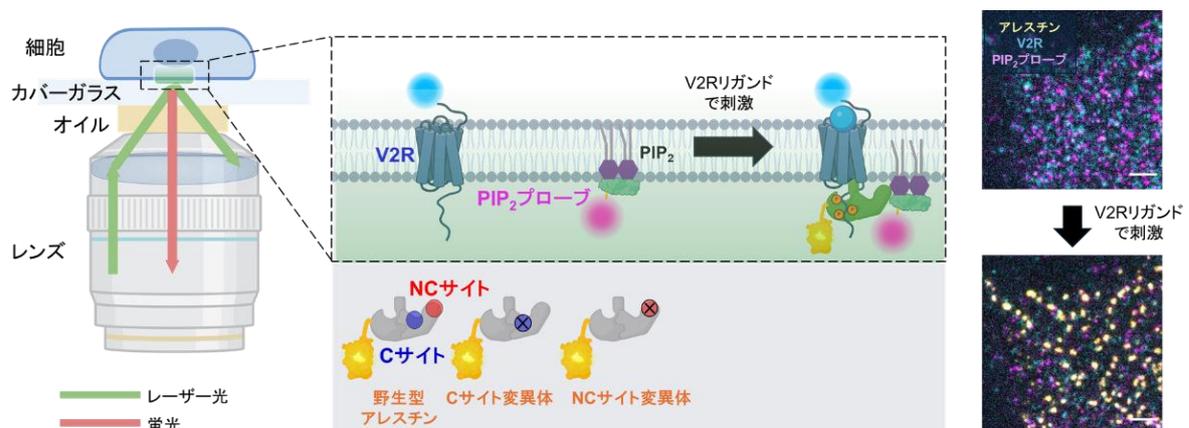


図 2 一分子イメージングによる V2R・アレステン・PIP<sub>2</sub> プローブの 3 色同時解析

(左図) 一分子イメージングの概要図。一分子イメージングでは全反射蛍光照明顕微

鏡を用いており、カバーガラス上の細胞にレーザーを照射することで試料を励起し、生じる蛍光画像を取得する。励起光（エバネッセント光）が当たる範囲がカバーガラスに近接した形質膜近傍に限られていることから、形質膜に存在する分子を選択的に観察することができる。本研究では、内在のアレスチンを欠損させた細胞にアレスチン（野生型・Cサイト変異体・NCサイト変異体）、V2R、PIP<sub>2</sub>プローブの3種類を発現させ、それぞれ別々の蛍光色素で標識し、V2R リガンド刺激前後の形質膜上におけるこれらの分子の微細な挙動を高精度に観察した。

（右図）蛍光色素で標識したアレスチン（黄）、V2R（青）、PIP<sub>2</sub>プローブ（ピンク）の画像。リガンド刺激前はアレスチンが形質膜に存在する様子はほとんど見られないが、リガンド刺激後には形質膜上に集積している様子が観察された。リガンド刺激前後の動画を撮影し、1分子追跡解析することで、各種分子の動態（例、特定の部位に集積）を評価できる。スケールバー：3マイクロメートル

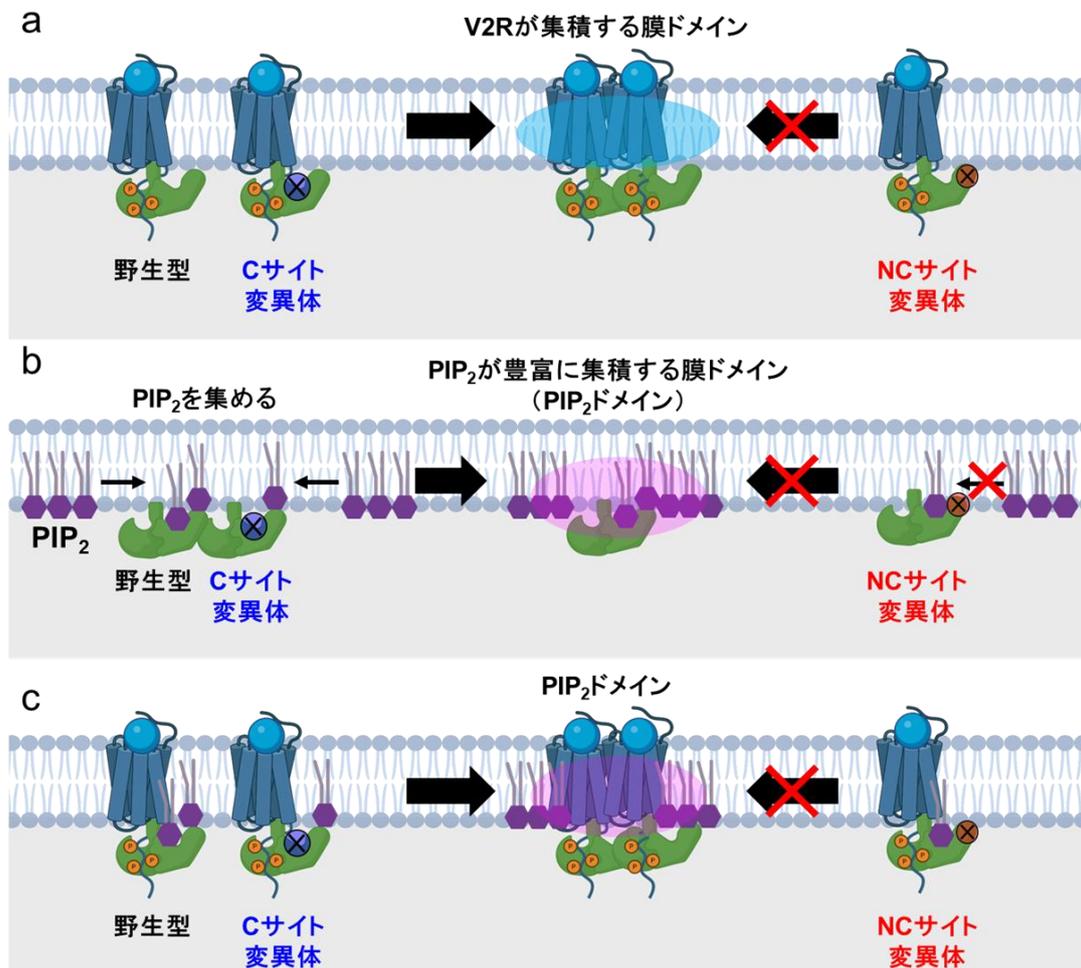


図3 アレスチンのNCサイトを介したV2R・PIP<sub>2</sub>の膜ドメイン集積

(a) V2Rの一分子動態解析から、野生型やCサイト変異体アレスチンを発現させた条件において、リガンド刺激によって、制限されたV2Rの動きのパターンをとる割合

が増加した。NCサイト変異体アレスチンの発現条件では、V2Rの動態変化はほとんど見られなかった。この結果から、アレスチンのNCサイトはV2Rを形質膜上の膜ドメインに集積させる役割を有することがわかった。

(b) PIP<sub>2</sub>プローブの一分子動態解析から、V2Rと同様のパターンが観察された。すなわち、野生型やCサイト変異体アレスチンを発現させた条件において、PIP<sub>2</sub>プローブは制限された動きのパターンをとる割合が増加し、NCサイト変異体アレスチンでは、PIP<sub>2</sub>プローブの動態変化はほとんど生じなかった。この結果から、アレスチンのNCサイトはPIP<sub>2</sub>を形質膜上で集めることで膜ドメイン（PIP<sub>2</sub>ドメイン）を形成する機構が想定された。

(c) V2RとPIP<sub>2</sub>プローブの一分子共局在解析から、野生型やCサイト変異体アレスチンを発現させた条件において、リガンド刺激によって、V2RとPIP<sub>2</sub>プローブの共局在が増加した。NCサイト変異体アレスチンの発現条件では、この共局在の増加が見られなかった。この結果から、アレスチンのNCサイトはPIP<sub>2</sub>ドメインを形成し、PIP<sub>2</sub>ドメインにV2Rを集積させる機能を有することが想定された。

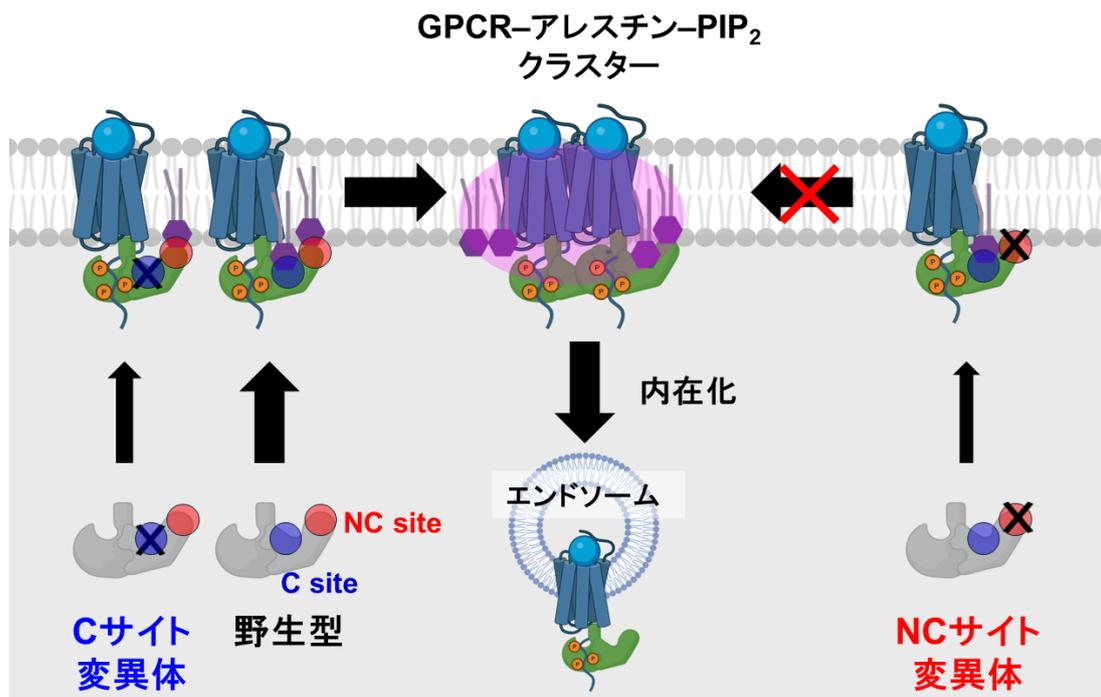


図4 アレスチンのNCサイトを介したGPCR内在化の制御機構

NCサイト変異体アレスチンを発現させた細胞では、野生型やCサイト変異体アレスチンを発現させた細胞と比べて、V2Rの内在化応答が低下した。本研究の一連の結果を総合すると、アレスチンのNCサイトはGPCR-アレスチン複合体を形質膜上のPIP<sub>2</sub>ドメインに集積させることで、GPCRの内在化を効率的に誘導する機構が想定された。この機構により、効率的にGPCRを内在化することができ、GPCRの情報伝達をシャットオフすることが可能となる。

## 【謝辞】

本研究は、日本学術振興会（JP21H04791、JP21H05113、JP24K21281、JPJSBP120213501、JPJSBP120218801、JP24K01982、JP24H01266）、科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業（JPMJFR215T）、同 ムーンショット型研究開発事業（JPMJMS2023）、同 戦略的創造研究推進事業 さきがけ（JPMJPR20EF）、同 未来社会創造事業（JPMJMI22H5）、同 次世代研究者挑戦的研究プログラム（SPRING）（JPMJSP2114）、日本医療研究開発機構（JP22ama121038、JP22zf0127007）、武田科学振興財団、上原記念生命科学財団などの支援を受けて実施されました。本論文は『東北大学 2025 年度オープンアクセス推進のための APC 支援事業』の支援を受け、Open Access となっています。

## 【用語説明】

注 1：アレスチン（ $\beta$ アレスチン、ベータアレスチン）

GPCR に結合する情報伝達制御タンパク質。定常状態では細胞質に存在し、GPCR にリガンドが結合して活性化構造になると、形質膜に移行して GPCR と結合し、GPCR の内在化を引き起こす。アレスチンには全身性に発現する 2 つのサブタイプ（ $\beta$ アレスチン 1、 $\beta$ アレスチン 2）が存在する。

注 2：ホスファチジルイノシトール 4,5-ニリン酸（PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>、PIP<sub>2</sub>）

形質膜に存在し情報伝達に重要な役割を果たすリン脂質。負の電荷を持っており、アレスチンの塩基性（正電荷）アミノ酸残基と結合することで（静電相互作用、注 7 参照）、GPCR とアレスチンの複合体を安定化させる。

注 3：G タンパク質共役型受容体（GPCR）

形質膜に存在する受容体であり、ヒトにおいて約 800 種存在する。GPCR は特定のホルモンや代謝物（これら結合分子をリガンドと呼ぶ、注 6 参照）と結合することで活性化型へと構造変化し、主に三量体 G タンパク質をオンにすることで、さまざまな細胞応答を引き起こす。

注 4：内在化

細胞が形質膜の一部を陥入させ、受容体を細胞内に取り込む過程のこと。GPCR の内在化は細胞の重要な情報伝達調節機構であり、受容体の一時的な無反応化（脱感作）や情報伝達の制御に関与する。

注 5：形質膜

細胞膜のうち、細胞外と細胞内を仕切る脂質二重膜を指す。

注 6 : リガンド

受容体に特異的に結合する分子。ホルモンや神経伝達物質などが含まれる。

注 7 : 静電相互作用

正と負の電荷を持つ分子同士の間働く引力。タンパク質と脂質などの結合に関与する。

注 8 : 分子動力学シミュレーション

計算機を用いて分子の動きを時間的に追跡・予測する手法。分子間の相互作用や分子の構造変化を解析するために用いられる。本研究では、アレスチンと PIP<sub>2</sub> の相互作用を解析するために用いた。

注 9 : 2 型バソプレシン受容体 (V2R)

腎臓などに発現し、水分の再吸収を調節する GPCR。アレスチンとの結合が強い GPCR の代表であり、アレスチン研究のモデル GPCR として汎用されている。

注 10 : 一分子イメージング

標的タンパク質を蛍光標識し、顕微技術により一分子の解像度で標的タンパク質の動態を可視化する技術。本研究では、異なる波長の蛍光標識と全反射照明蛍光顕微鏡を用いることで、形質膜上の V2R、アレスチン、PIP<sub>2</sub> プローブの 3 種類のタンパク質分子の動態を同時に計測した。

注 11 : 野生型

本研究では、正常型のアミノ酸配列からなるアレスチンタンパク質を指す。

注 12 : 変異体

本研究では、特定のアミノ酸残基を別のアミノ酸残基に置換したアレスチンタンパク質を指す。

注 13 : 膜ドメイン

形質膜上に動的に形成・消失する数十から数百ナノメートルの区画であり、特定のタンパク質や脂質が集中して存在する。

【関連する以前の研究のプレスリリース・成果発表】

- ・ 細胞の情報伝達のオンオフを切り替える脂質分子 — 細胞内取り込み因子アレスチンが受容体に結合する第二の機構の発見 — (2022年11月11日)  
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2022/11/press20221111-03-switch.html>
- ・ 受容体1分子の動きを4色の蛍光色素で同時に観察 — 薬効評価を加速する蛍光・発光マルチモード標識法の開発 — (2024年10月15日)  
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2024/10/press20241015-04-gpcr.html>
- ・ オピオイド鎮痛薬の副作用発現に関わるシグナル分子機構を解明 — 副作用を低減した鎮痛薬の開発に貢献 — (2024年12月10日)  
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2024/12/press20241210-01-signal.html>

【論文情報】

タイトル : Membrane-domain compartmentalization of active GPCRs by  $\beta$ -arrestins through PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> binding

(日本語訳 : アレスチンは PIP<sub>2</sub> と結合することで活性型 GPCR を膜ドメインに区画化する)

著者 : Ritsuki Kuramoto<sup>1</sup>, Tatsuya Ikuta<sup>1</sup>, Carlo Marion C. Carino<sup>1</sup>, Kouki Kawakami<sup>1</sup>, Miisha Kushiro<sup>1</sup>, Chihiro Watanabe<sup>1</sup>, Yasunori Uchida<sup>2</sup>, Mitsuhiro Abe<sup>3</sup>, Yasushi Sako<sup>3</sup>, Tomohiko Taguchi<sup>2</sup>, Masataka Yanagawa<sup>1, 3</sup>, Asuka Inoue<sup>1, 4\*</sup>

1. 東北大学 大学院薬学研究科
2. 東北大学 大学院生命科学研究科
3. 理化学研究所 開拓研究本部
4. 京都大学 大学院薬学研究科

\*責任著者 : 東北大学 大学院薬学研究科 教授 (京都大学 大学院薬学研究科 教授を兼務) 井上飛鳥

掲載誌 : Nature Chemical Biology

掲載日 : 2025年8月6日

DOI : 10.1038/s41589-025-01967-4

URL : <https://doi.org/10.1038/s41589-025-01967-4>

**【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

(JST 事業に関すること)

科学技術振興機構創発的研究推進部

加藤 豪

TEL: 03-5214-7276

Email: souhatsu-inquiry@jst.go.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院薬学研究科

総務係

TEL: 022-795-6801

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

京都大学広報室国際広報班

TEL: 075-753-5729

Email: comms@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp

科学技術振興機構広報課

TEL: 03-5214-8404

E-mail: jstkoho@jst.go.jp