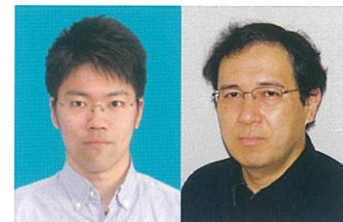


ロイコトリエンB₄受容体1の段階的リン酸化がロイコトリエンB₄に対する細胞応答を規定する

Stepwise phosphorylation of leukotriene B₄ receptor 1 defines cellular responses to leukotriene B₄

談 莫東¹ 市木 貴子² 井上 飛鳥³ 吉原 純一⁴ 前川 直斗⁴ 竹之下 逸樹⁴ 柳田 圭介⁵
山平 真也¹ 山口 哲志¹ 青木 淳賢³ 長棟 輝行¹ 横溝 岳彦² 清水 孝雄^{5,6}

¹ 東京大学大学院 工学研究科 化学生命工学専攻 ⁴ 岡山理科大学大学院 理学研究科 臨床生命科学専攻 細胞情報学研究室
² 順天堂大学大学院 医学研究科 生化学 細胞機能制御学講座 ⁵ 東京大学大学院 医学系研究科 細胞情報学研究室
³ 東北大学大学院 薬学研究科 分子細胞生化学分野 ⁶ 国立国際医療研究センター 脂質シグナリングプロジェクト



中西 由光 Yoshimitsu Nakanishi
東京大学大学院 医学系研究科 細胞情報学研究室
(現 大阪大学大学院 医学系研究科 呼吸器・免疫内科学講座)
中村 元直 Motonao Nakamura
岡山理科大学大学院 理学研究科 臨床生命科学専攻 細胞情報学研究室 教授

左から中西 由光、中村 元直

Contact 中村 元直 E-mail : moto-nakamura@dls.ous.ac.jp
所在地 : 700-0005 岡山県岡山市北区理大町1-1
URL : http://www.dls.ous.ac.jp/staff2/nakamura.html

Abstract

ロイコトリエンB₄ (LTB₄)の1型受容体(BLT1)は食細胞や免疫細胞に高く発現し、さまざまな炎症性疾患に重要な役割を担う。BLT1は、リン酸化修飾を受けるセリンおよびスレオニン残基をカルボキシ末端内に7つもつ。われわれはPhos-tagゲル電気泳動法を用い、ヒトBLT1カルボキシ末端の7ヵ所のリン酸化が恒常的およびリガンド誘導的という2種類のタイプに分けられることを見出した。7ヵ所のうち、5ヵ所はさまざまな程度でLTB₄非存在下でも恒常的にリン酸化修飾される。一方、LTB₄刺激が起こると、その濃度依存的に残りの2ヵ所が段階的にリン酸化され、これらのリガンド誘導的修飾は、恒常的リン酸化部位のさらなるリン酸化を亢進した。好中球はLTB₄の濃度勾配に沿って炎症部位に向かって遊走するため、BLT1のリン酸化度合は、遊走に伴う細胞周囲のLTB₄濃度上昇に並行して亢進する可能性がある。7ヵ所のリン酸化部位を欠失させたBLT1をチャイニーズハムスター卵巣(CHO-K1)細胞に発現させると、この細胞は高いLTB₄濃度域における走化性が障害され、ラット好塩球性白血病(RBL-2H3)細胞においては、脱顆粒の1つの指標であるβ-ヘキソサミンダーゼの細胞外放出が低下した。これらの結果から、炎症部位周囲のLTB₄勾配が、BLT1リン酸化を段階的に増強し、食細胞と免疫細胞の炎症部位への的確な遊走と、脱顆粒などの局所応答の開始を促進することが示唆される。

Figure and Note

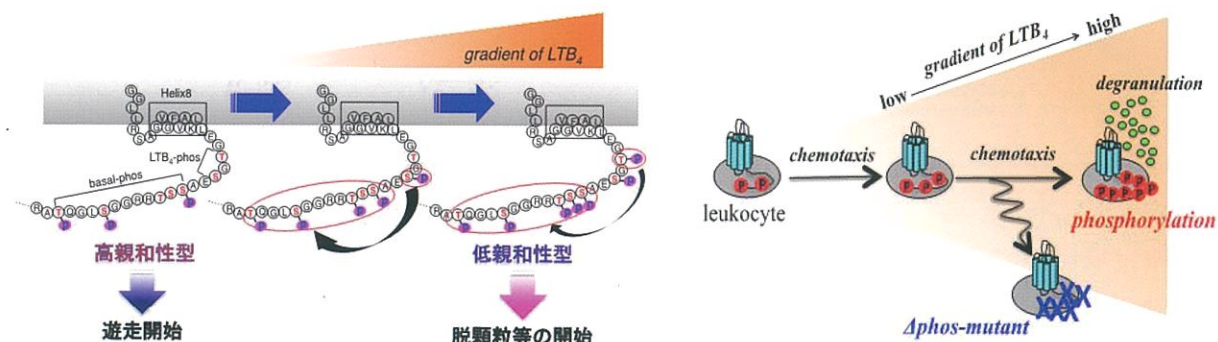


図1: BLT1カルボキシ末端の7つのセリン(S)/スレオニン(T)残基は段階的にリン酸化修飾される
7つのS/T残基(赤字)の内、5つ(basal-phos)は恒常的に幾つかがリン酸化状態にあり、残りの2つ(LTB₄-phos)はLTB₄刺激濃度に依存して段階的修飾され、これが恒常的修飾も亢進させる。

図2: LTB₄の高濃度域におけるBLT1リン酸化の重要性
リン酸化欠失BLT1を発現させたCHO-K1細胞はLTB₄高濃度域における遊走が障害され、RBL-2H3細胞は脱顆粒の指標となるβ-ヘキソサミンダーゼの放出が低下した。

ロイコトリエンB₄受容体は段階的リン酸化によって“2つの顔”をつくる

強力な脂質メディエーターであるロイコトリエンB₄(LTB₄)は、特異的受容体(BLT1)への結合を介し、好中球に対して遊走や脱顆粒を引き起こします。BLT1はGタンパク質共役型受容体(GPCR)ファミリーに属する受容体です。LTB₄/BLT1の情報伝達経路は、炎症、アレルギーや関節リウマチなどの発症に深く関わることから、BLT1は長年、創薬標的として重要視されてきました。しかし、いまだに有効なBLT1拮抗剤は開発されず、創薬現場では斬新な開発戦略が切望されています。こうした背景の中、わたしたちはBLT1の未知の制御機構を見出し、これを新規のBLT1拮抗剤開発に応用したいと考えました。

好中球の表面にはLTB₄によって特異的に活性化されるBLT1という受容体タンパク質が存在します。炎症部位で産生されたLTB₄は血中に放出されて濃度勾配を形成します。血中の好中球は表面に存在するBLT1でこれを感じて遊走を開始し、LTB₄濃度の高い方へと向かいます。同時に、LTB₄の結合で活性化されたBLT1は、LTB₄の濃度勾配下でリン酸化修飾が段階的に亢進し、これによって高親和性から低親和性へと構造変化すると考えられます。リン酸化の亢進で親和性を低下させたBLT1は、高濃度LTB₄域に到達する時期を待ちます。やがて好中球が高濃度LTB₄域である炎症局所に到達すると低親和性BLT1は再び活性化され、局所で必要な細胞応答(脱顆粒や活性酸素産生など)を開始させます。即ち、親和性を低下させたBLT1は、炎症局所への到達を知るセンサーとして働いているとも考えられるわけです。ヒトはGPCRを900種類以上持ちますが、こうした特徴の受容体は見出されておられません。この発見が起点となり、GPCRの機能制御研究が新展開を迎えることを期待します。

LTB₄のBLT1への結合は、炎症、アレルギーや関節リウマチなどの発症に深く関わるのがBLT1遺伝子破壊マウスの解析などから示唆されています。こうした背景からBLT1は長年、創薬標的として注目されてきましたが、いまだにこれら疾患に対してBLT1特異的拮抗剤が臨床応用されるに至っていません。従来の拮抗剤は高親和性型を標的としたものですが、例えばリン酸化部位を酸性アミノ酸に置換した低親和性構造のBLT1を標的とし、阻害薬を創製することで新たなBLT1拮抗剤の開発が期待できます。

GPCR研究に魅せられて

私がGPCRの魅力に取り憑かれたきっかけは、東京大学医学部時代に清水孝雄先生(現国立国際医療研究センター 脂質シグナリングプロジェクト長)のもとで血小板活性化因子受容体の研究をさせていただいたことでした。現在の研究室には毎年15名ほどの学部・大学院生が籍を置きます。私は今でもベンチで学生と一緒に実験していますが、少々老眼が加速し、エタ沈の沈殿物が目視し辛いのが寂しい今日この頃です。GPCR研究に興味をお持ちの若手の方(自称でも可)、一緒に研究しませんか。まだまだ未発表の面白い課題があります。お待ちしております。

(写真:今年度の研究室メンバーの集合写真)

