

# Ion channel regulation through AKAP-signaling complex

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9930">http://hdl.handle.net/2297/9930</a>

## 【総説】

## 第三回 金沢大学十全医学賞受賞論文

論文 「神経情報伝達機構の解明：AKAP酵素複合体によるイオンチャンネルの制御」  
Ion channel regulation through AKAP-signaling complex

Vollum Institute, Howard Hughes Medical Institute, Oregon Health &amp; Science University

星 直人 (ほし なおと)

## はじめに

私が医学生生の頃習った生化学では細胞内情報伝達は、[受容体→セカンドメッセンジャー→効果器]と2つの矢印で要約できるシンプルな世界であった。しかし、近年の細胞内情報伝達経路は煩雑なネットワークとして表されるようになった(図1a)。それらのダイアグラムでは複数の経路が絡み合い、任意の2点を繋ぐ経路を簡単に見つけられるほどである。酵素タンパク複合体が注目を集めるようになったのは、このようなカオスに秩序を与える機序を提供しようのではないかという期待からである<sup>1)</sup>。今回紹介させていただく一連の研究は、酵素複合体が生体内でどのようにタンパクを制御しているかを、イオンチャンネルをモデルとして解析したものである。

## 信号伝達複合体

試験管内の実験では、情報を伝達する酵素、特にリン酸化酵素において、その基質の認識は低いことがおおい。つまり、リン酸を受け取る部位があれば、周りのアミノ酸配列が多少違っていてもリン酸化することができることが多いのである。インターネットデータベース上に酵素別の“リン酸化部位の予想配列(コンセンサス配列)”を見つけることができ、遺伝子産物の制御予想に一役買っているが、それに当てはまらない配列でリン酸化を受けることが試験管内のリン酸化実験ではよくある(図1b)。一方細胞内の実験では、特定のタンパクのみがリン酸化され、試験管内ではよい基質となったものでも、リン酸化されないことがよくある(図1c)。酵素複合体は、このような特異性の付加に関わっていると考えられている。つまり、足場タンパク(scaffold protein)を介して、信号伝達酵素とその反応基質がひとまとめに保持されるため、特定のタンパクが、より効率的にリン酸化されるという機序が考えられるのである(図1d)。実際、細胞内で主経路となっているタンパクを解析するとタンパク複合体となっていることが多い。そのタンパク複合体の一例が、ガン化に関与するチロシンリン酸化酵素複合体であり、他例が、今回紹介させていただく、Aキナーゼ錨留タンパク(A-kinase anchoring protein, AKAP)である。

AKAP是一群のタンパクの総称で、その名が示すようにcAMP依存性リン酸化酵素(Aキナーゼ, PKA)の結合タンパクとして見つかった。現在では20種以上が同定され、AKAP79などと番号が振られることが多い。その後の研究で、PKA以外に多くの酵素と結合し様々な生体反応を制御していることがわかってきた。共通の構造として、1) PKA結合部位、2) 酵素結合部位、3) 細胞内局在部位を持つ(図2a)。従来は、AKAPの細胞

局によって局所的な酵素濃度を高めることで特定の細胞分画の反応性が高まると思われていた。図2にAKAP79/150の例を示した。このタンパクは、細胞膜に位置し、ホスホリパーゼCに関係する酵素、分子を総て含むタンパク複合体を形成する。現在ではAKAPは、ある細胞分画の酵素濃度を高めるだけでなく、基質とも結合している例が多いことが知られつつある<sup>2)</sup>。我々の研究によってタンパク複合体は薬剤感受性にも影響を及ぼしていることが示唆された。

## Mチャンネル

Mチャンネル制御は1980年代から本学東田教授によって始められたテーマであり<sup>3)</sup>、筆者も東田教授の指導の下、その解析を行っていた。Mチャンネルは、神経に発現している神経活動を制御しているカリウムイオンを透過する膜タンパクである。このチャンネル遺伝子の突然変異は新生児てんかんの原因となり、チャンネル賦活剤は抗てんかん剤として開発が進められている。また、チャンネル阻害剤は認知向上薬として認知症治療への期待が持たれている。このチャンネルの大きな特徴は、ムスカリン性アセチルコリン刺激で閉じることで、これはアセチルコリンによる神経活動上昇の機序となっていると考えられている(図3a)。我々はこのムスカリン性チャンネル抑制の分子機構を解明しようとしていた。しかしその経路は長い間混沌としていた。なぜなら薬剤で特定の経路を遮断しようとしてもチャンネル抑制に影響がなく、経路が同定できなかったためである<sup>4)</sup>。

## Mチャンネルの制御とAKAP

それまでの研究から、Mチャンネルのムスカリン性抑制経路にはホスホリパーゼが関与することは知られていた(図2b)。ある日、AKAPの総説が目にとまり、AKAP79/150にホスホリパーゼに関与するほとんどすべての分子が結合することを知った(図2)<sup>5)</sup>。こうしてはじまったAKAP79/150とMチャンネル抑制の研究は、幸い2003年に発表することができた<sup>6)</sup>。要点は、MチャンネルはAKAP79/150と結合しタンパク複合体を形成すること、タンパク複合体の構成要素の中でCキナーゼ(PKC)が重要であること、チャンネルのリン酸化には、複合体に含まれるごく一部のPKCのみが作用でき、大量に細胞質にあるその他のPKCは関与しないこと、複合体に含まれるPKCは薬剤感受性が変わり、ある種の阻害剤に耐性となることがわかった(図3b)。この結果は、多くの科学者に驚きを持ってむかえられた。なぜならPKC阻害剤がムスカリン抑制に何ら影響を与えないので、

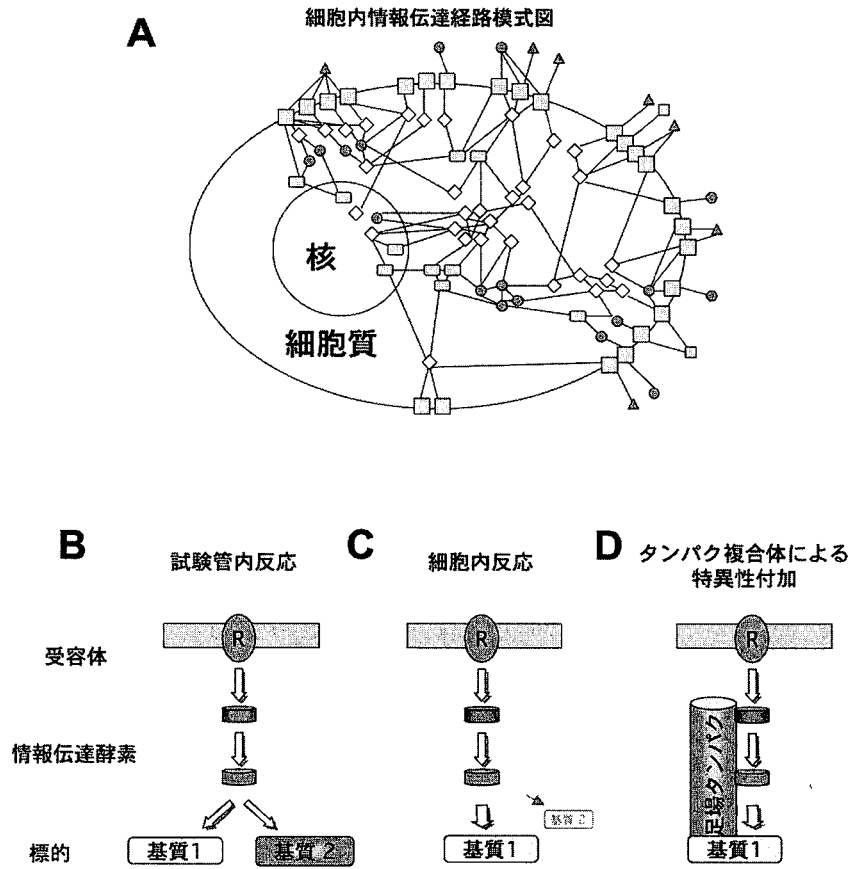


図1. 細胞内情報伝達ネットワークとタンパク複合体の役割. A) 細胞内情報伝達ネットワークの模式図. 近年は複経路間の相乗効果, 相殺効果が多く見つかったため, それらを表すダイアグラムは複雑になった. B) 試験管内では, 酵素の基質となるタンパクは多く見つかる. C) しかし細胞内では, 特定のタンパクが主要な基質となりほかのタンパクは標的とならないことが多くある. D) この細胞内で見られる特異性の機序として, 足場タンパクによるタンパク複合体形成がある. 酵素, 基質タンパクが足場タンパクによってそれぞれの近傍に位置し, それによって効率よく情報が伝達される.

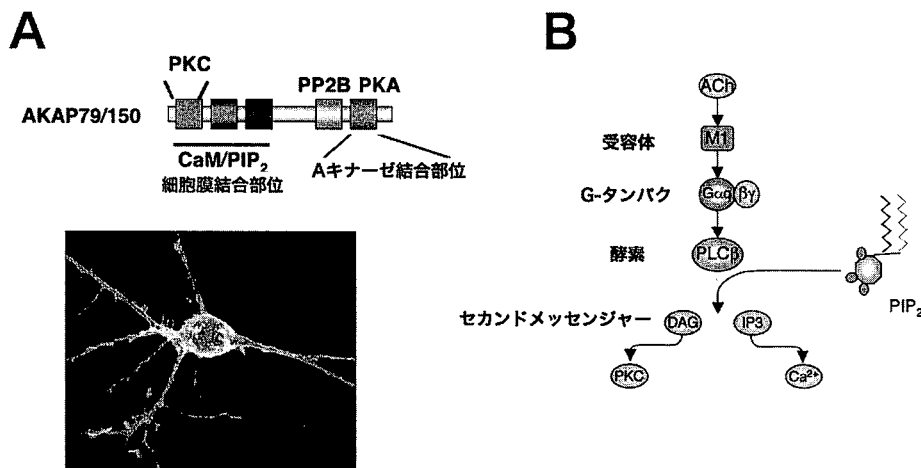


図2. AKAPの構造とシグナル伝達. A) AKAP79/150の模式図. AKAPはAキナーゼ (PKA), Cキナーゼ (PKC), カルシウム結合タンパク (CaM), カルシウム依存性脱リン酸化酵素 (PP2B), リン脂質 (PIP<sub>2</sub>)と結合する. A, 下パネル) AKAP79はリン脂質を介して細胞膜に存在する. ここには示していないが, 様々な膜タンパクと結合する. B) ムスカリン性アセチルコリンの情報伝達. この経路で活性化されるホスホリパーゼC (PLC) に関係する多くの分子 (PIP<sub>2</sub>, Ca, PKC)が, AKAP79と結合する.

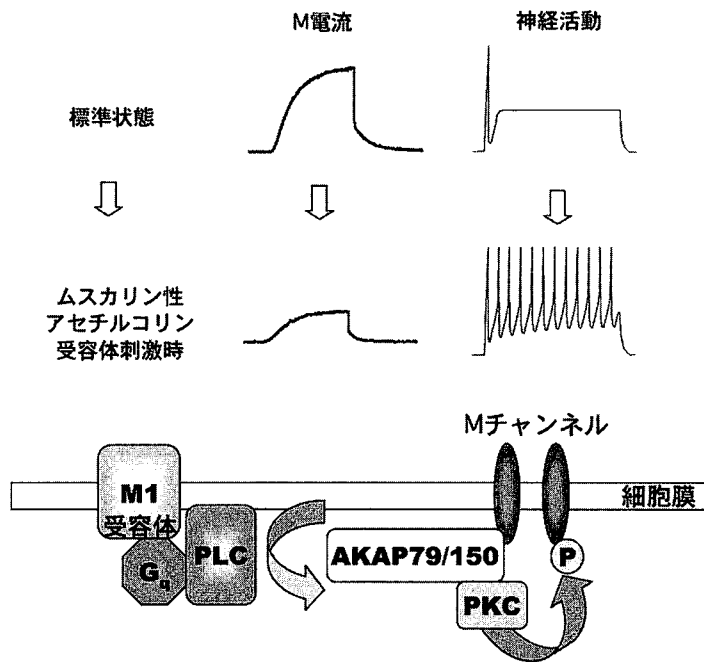


図3. Mチャンネルとムスカリン抑制. 上パネル) Mチャンネルは神経活動を抑制的に制御している. アセチルコリンによってMチャンネルが閉じると, 神経は発火頻度を増す. 下パネル) Mチャンネルとムスカリン抑制は, チャンネルに繫留されているPKCが必要で, これによるリン酸化(P)が重要な役割を果たしていた.

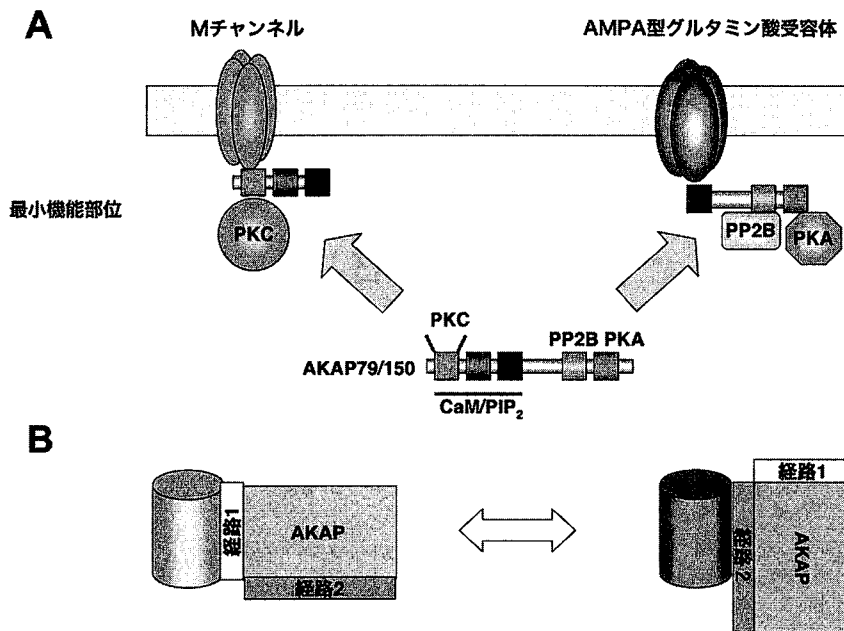


図4. AKAP79/150のモジュール構成. A) AKAP79/150はより小さなモジュールからなり, 特定の情報伝達にはその一部しか使っていない. Mチャンネルの場合は, PKCとチャンネル結合部位があれば十分機能し, AMPA型グルタミン酸受容体の場合は, PP2BとPKAと受容体結合部位が最小機能単位であった. AKAP79/150の標的結合部位は標的によって異なり, 共通した配列は持たない. B) AKAPは経路に応じたタンパク複合体の一部分(モジュール)を利用し, 複合体としての機能を果たしていた. このことは, 限られた遺伝子量で膨大な情報を処理するために有効であると考えられた.

PKCはこの経路と無関係と考えられていたからである。タンパク複合体による薬剤耐性は、この分野における混乱原因の一つと考えられた。

上記の研究は、欠損タンパクの大量発現によって内在する経路を置換する実験系を用いた。この系の欠点は、内在するタンパクがそのまま残り、実験結果の解釈を困難にすることであった。つづくプロジェクトでは、この点を改良し、まず内在タンパクを破壊し、その上で外来タンパクの機能を測定するようデザインした。内在タンパクの影響を除外することで、様々な欠損AKAP79/150の機能を検査することが可能となり、AKAP79/150の最小機能単位を同定できた。Mチャンネルのムスカリン抑制には、AKAP79/150のN末端側1/4で十分であることがわかり、我々の予想どおりMチャンネルとPKCの結合部位を含んでいた。残りの3/4には、PKAその他の酵素結合部位が含まれていたがMチャンネルのムスカリン抑制には関与していなかった(図4)<sup>6)</sup>。

#### AMPA型グルタミン酸受容体とAKAP

なぜ無駄な部位がAKAP79/150-チャンネル複合体に残っているのだろうか。通常、生命体に不必要な機能があれば、進化の過程で消失していくのが普通である。この点についての知見は、並行して進んでいたAMPA型グルタミン酸受容体に対するAKAP79/150の制御機構からもたらされた。グルタミン酸は、ほ乳類の中樞神経において神経細胞間情報伝達の根幹をしめる神経伝達物質である。神経がグルタミン酸に反応する強度は、情報を受ける下流の神経細胞におけるAMPA型グルタミン酸受容体がシナプス膜上にどれだけあるかによって規定される。また、記憶、学習の基盤となる神経反応の増減は、最終的にAMPA型グルタミン酸受容体がどれだけ反応するかということに帰着する。このようにグルタミン酸反応性は非常に重要であるため、生体はグルタミン酸に対する反応を安定させる機構を保有している。この過程にAKAP79/150が関与することが知られていた<sup>7)</sup>。AMPA型グルタミン酸受容体はPKAでリン酸化を受けると反応が増大する。一方、入力刺激が増えると細胞内カルシウムが上昇して脱リン酸化酵素(PP2B)が活性化されリン酸化がうばわれ反応が減少する。AKAP79/150はこの2つの反応を担う酵素を同時に受容体のそばに繋留しているのである。このリン酸化-脱リン酸化のバランスがAMPA型グルタミン酸受容体の安定化装置の一つとして働く。反応が大きすぎれば脱リン酸化酵素が優位となって反応を弱め、反応が小さすぎれば、PKAが優位となって反応が大きくなる。酵素が受容体に繋留された結果、決まった数のPKAとPP2B分子が受容体を制御することとなり、自由な分散による場合とことなり、リン酸化-脱リン酸化のバランスを厳密にコントロールできるようになると考えられている。並行して進んでいた実験とは、この系でのAKAP79/150必要最小機能単位の同定であった。その結果は上記のPKA、PP2Bの結合部位を含む、C末端側3/4が機能単位として必要というものであり、さきのMチャンネルの実験とほとんど重ならない部位であった(図4)<sup>6)</sup>。このことから、タンパク複合体で特定の経路に使われていない構成要素も、別経路では使われていることが明らかになった。これはタンパク複合体が経路に応じてその一部のみで機能して

いること、一つの複合体で複数経路の制御が可能であることを示していた。

#### まとめ

以上の二つのモデル系からタンパク複合体はその構成分子総てが特定の反応系に関与しているわけではないことがわかった。つまり、タンパク複合体は部分部分を特定の経路の必要に応じて使用していることを意味していた。いいかえると、酵素複合体が複数のモジュールから構成されていて、経路に応じてモジュールの組み合わせを変えて機能単位としていることを示していた。タンパク複合体は、それぞれの細胞内経路に特異性を与えることで注目を集めてきたが、各経路に特化した複合体を想定すると、膨大な足場タンパクが必要となる。ヒト遺伝が高々2万程度であるため、どのようにこのジレンマが解消されているのかが一つの疑問であった。今回の実験によりAKAPは多様な刺激に対しそれぞれに特化したタンパクを用意する代わりに、モジュールを使い分けることで効率的に各経路に対して特異性を付加していると思われた(図4b)。

#### 謝 辞

第三回金沢大学十全医学会賞受賞にあたり、本賞の運営に関わっておられます皆様へ厚く御礼申し上げます。本研究遂行にあたり、特に前半の御指導御助言を賜りました恩師金沢大学大学院医学系研究科脳細胞遺伝子学教授 東田陽博博士に深謝いたします。また、多くの金沢大学大学院医学系研究科基礎講座の教授、研究者達からの絶え間ない励ましなしではこのプロジェクトはなしえず、この場を借りて厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) Smith, F.D., Langeberg, L.K. & Scott, J.D. The where's and when's of kinase anchoring. *Trends Biochem Sci* 31: 316-323, 2006.
- 2) Colledge, M. & Scott, J.D. AKAPs: from structure to function. *Trends Cell Biol* 9: 216-221, 1999.
- 3) Higashida, H. & Brown, D.A. Two polyphosphatidylinositol metabolites control two K<sup>+</sup> currents in a neuronal cell. *Nature* 323: 333-335, 1986.
- 4) Marrion, N.V. Control of M-current. *Annu Rev Physiol* 59: 483-504, 1997.
- 5) Hoshi, N., Zhang, J.S., Omaki, M., Takeuchi, T., Yokoyama, S., Wanaverbecq, N., Langeberg, L.K., Yoneda, Y., Scott, J.D., Brown, D.A. & Higashida, H. AKAP150 signaling complex promotes suppression of the M-current by muscarinic agonists. *Nat Neurosci* 6: 564-571, 2003.
- 6) Hoshi, N., Langeberg, L.K. & Scott, J.D. Distinct enzyme combinations in AKAP signalling complexes permit functional diversity. *Nat Cell Biol* 7: 1066-1073, 2005.
- 7) Tavalin, S.J., Colledge, M., Hell, J.W., Langeberg, L.K., Huganir, R.L. & Scott, J.D. Regulation of GluR1 by the A-kinase anchoring protein 79 (AKAP79) signaling complex shares properties with long-term depression. *J Neurosci* 22: 3044-3051, 2002.