

接着因子・細胞内シグナル伝達

| | |
|--|----|
| 接着因子 | 2 |
| 細胞接着分子（分子構造モデルの図入り） | 2 |
| A. 研究小史 | 4 |
| B. 細胞接着分子 | 7 |
| 1) Cadherin family | 7 |
| 2) Immunoglobulin superfamily | 8 |
| C. 細胞基質接着分子 | 10 |
| Integrin : | 10 |
| Adheron : | 11 |
| D. 基質（間）接着分子 | 11 |
| Laminin : | 11 |
| Thy- 1 protein : | 13 |
| Fibronectin : | 13 |
| その他の基質接着分子 : | 14 |
| 基板 : | 14 |
| ●RGD配列 [RGD sequence] | 16 |
| R G D [配列]（分生KW辞典） | 16 |
| 細胞内シグナル伝達 | 17 |
| ●Gタンパク質 G protein | 18 |
| ●シグナル伝達 signal transduction [細胞情報伝達] | 19 |
| ●セカンドメッセンジャー second messenger [細胞内情報伝達物質intracellular messenger] | 20 |
| 細胞内シグナル伝達（レセプター・キナーゼ、図） | 21 |
| 膜受容体の種類と機能 | 21 |
| プロテインキナーゼ概要 | 23 |
| Aキナーゼ， Cキナーゼ， CaMキナーゼ | 26 |
| MAPキナーゼカスケード | 28 |
| レセプター型チロシンキナーゼ | 29 |
| 細胞質型チロシンキナーゼ | 31 |

接着因子

細胞接着分子（分子構造モデルの図入り）

多細胞生物の細胞は強固で特異的な細胞間接着性によりバラバラになることなく、そこには特異的な細胞接着分子が関与する。一般性の高い細胞接着分子として、竹市らにより発見されたカドヘリンがある。カドヘリンのプロトタイプとしてはNカドヘリン(神経)、Eカドヘリン(ウボモルリンあるいはL-CAM)(上皮性)、Pカドヘリン(胎盤)があるが、アイソフォームとして、それ以外にも多数の分子が存在する。典型的なカドヘリン分子(N端からEC1~5の細胞外ドメインの次に膜貫通部位をもち、C端に細胞内ドメインをもつ)の他にも膜貫通部位がないもの、デスモソーム(細胞間接着装置の一種)に特異的なもの、あるいは細胞外ドメインの数が少ないプロトカドヘリンファミリーなどがある。

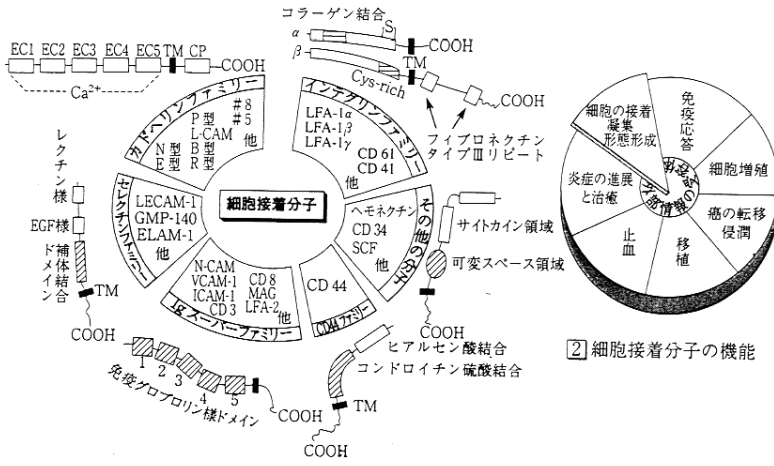
カドヘリンは同種分子どうしがホモフィリックに結合する。カルシウムイオンはカドヘリンの機能発揮に必須であるが、**カルシウムイオン**はタンパク質分解酵素に対する抵抗性と構造変化をカドヘリンに与える。カドヘリンの細胞質ドメインには3種のタンパク質カテニン(α , β , γ)が結合し、これがビンキュリン/ α -アクチニンの架橋を介してアクチンフィラメントと結合している。この他、アンキリンやフォドリンなどの裏打ちタンパク質もカドヘリンと結合する。これらカドヘリンに直接・間接に結合するタンパク質は、**アドヘレンス・ジャンクション(AJ)**とよばれる細胞間接着装置に濃縮しており、これによってカドヘリンの局在が起り、強い細胞接着が可能になる。

インテグリンは別のクラスの細胞接着分子で、大サブユニット(α)と小サブユニット(β)からなる $\alpha\beta$ の**ヘテロ2量体**として**会合**しており、種々のリガンドと結合し、細胞-細胞、細胞-基質相互作用を起こし、創傷の治癒、免疫、止血、癌の移転などに重要な役割を果す。フィブロネクチンのRGD部位を介してインテグリンとの結合が起こる。細胞基質間AJにおいて、インテグリンはテーリン/ビンキュリン/ α -アクチニン/ α -アクチンという順序で相互作用していると考えられている。インテグリンファミリーは細胞基質間接着装置の**ヘミデスモソーム**に存在している。接着分子として最も初期に発見された一般的細胞接着分子である一群のCAMは、ICAM、VCAMなどと類似の構造をもつ多くの分子が存在するが、これらは免疫グロブリンと類似の構造モチーフをもち、Igスーパーファミリーとよばれている。ミエリン形成に関わる接着分子MAGや、

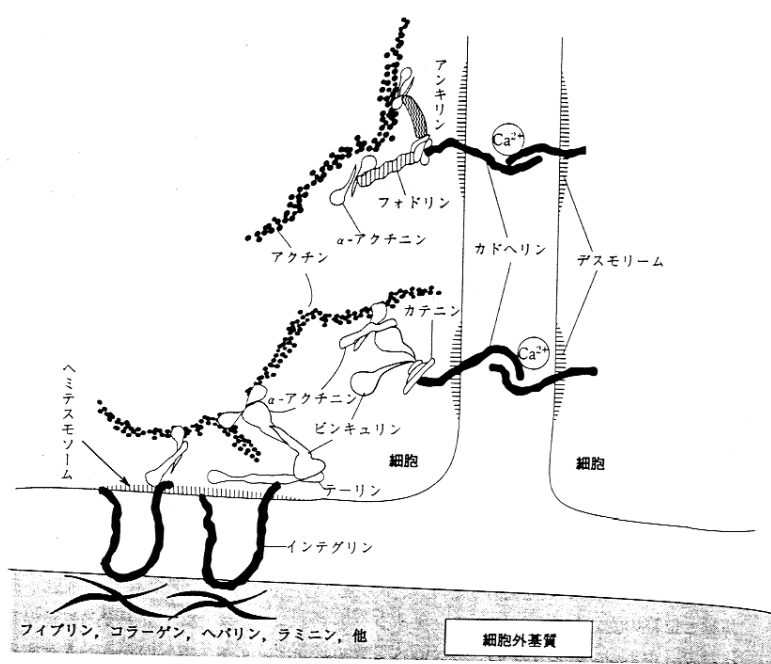
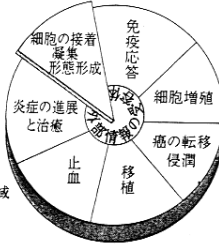
ショウジョウバエで知られているニューログリアンなども同じファミリーに属する。

細胞接着分子の中には**レクチン結合領域/EGF 様領域/補体結合タンパク質領域**を細胞外領域にもつ一連タンパク質があり、総称して**セレクチンファミリー**、あるいは**LEC-CAM**ファミリーとよばれる。CD44はコラーゲン受容体、フィブロネクチン受容体、ヒアルロン酸受容体をもつ接着分子で、他の細胞接着分子ファミリーのいずれにも属さない。CD44は選択的スプライシングにより多数のアイソフォームが見出されているが、リンパ球どうしの凝集の他、リンパ球の増殖や活性化に関与するなど、情報伝達物質としての機能をもつ。細胞接着分子にはこの他にも、造血に関与するヘモネクチン、トロンボスポンジン、血液幹細胞で発現するSCF、CD34などが知られている。細胞接着分子はこのように単なる“糊”ではなく、さまざまな情報伝達経路を介して、多彩な生命現象に関わる。

図解、生物科学講座（1998）、分子生物学（村松 正実編著）



② 細胞接着分子の機能



A. 研究小史

上皮組織を構成する細胞は、類似の形態をもつものが列状に連なって外界や体腔などに面して細胞性の境界膜を形成している。筋細胞は集合し、筋組織を形成している。生体内にあって同種の細胞からなる集合体が、どのような機構によってつくられるのかという疑問は、古くから生物学の研究者が興味を抱く研究課題の一つであった。上皮細胞の表面に存在し、個々の細胞の境界に一致

して、鍍銀法や Heidenhain 鉄ヘマトキシリン染色で示される網目状の構造は、閉鎖堤 **terminal bar** とよばれ、上皮細胞相互を接着する装置とみなされた。また皮膚表皮の有棘細胞間に認められる細胞間橋 **intercellular bridge** も、細胞間を結合し、外界から加わる物理的な力による細胞の剥離を防ぐ装置として理解されてきた。電子顕微鏡による研究の進歩に伴って、これら一連の装置は、なんらかの接着物質（細胞間セメント物質 **intercellular cement substance**）を介して相対する細胞膜の特殊な分化によって構成された構造体であることが明らかにされ、その超微細構造の違いから閉鎖結合、接着結合など種々の型に分類された。

以上のような純形態学的観点から進められた研究とは別個に、単細胞生物から多細胞生物にかけて、また原核生物 **prokaryotes** から真核生物 **eukaryotes** に広くみられる現象として、細胞間結合の問題がとくに発生生物学者の間で研究されてきた。**Wilson** (1907) は、カイメンを布で押しつぶして濾過し、解離した細胞を集めて静置しておく、それらがやがて集合し、元と同様の組織をもつカイメンが再生されてくることを見いだした。**Wilson** はまた異なる2種類のカイメンから得た解離細胞を混合しておく、同種の細胞同士が集合し、それぞれ元の2種類の個体ができることを認めた。この研究は、接着という生物学的現象を動的観点からとらえた最初の業績として高い評価を与えられている。**Wilson** の成果は、**DeMorgen and Drew** (1914)、**Chalkey** (1945) によって腔腸動物において追認された。その後 **Holtfreter** (1939) はイモリ胚をアルカリ処理して細胞を遊離させ、これらの細胞を培養下において観察すると、胚葉起原を同じくする細胞は相互に集合し、本来の組織に近い構造を再構成することが明らかにした。彼はこの現象を**組織親和性 Gewebeaffinität** と表現した。同じ年、彼の研究室で **Chuong** (1939) が神経管の局所ごとに起こる発生の特異性が、神経管に接する周囲組織の違いによってもたらされることを明らかにしたが、これらの研究を通して **Holtfreter** は、細胞がそれぞれを認識し、接着する機構になんらかの物質が関与するとの推測を深めていった。そして1948年に単独で発表した二つの論文と、**Townes and Holtfreter** (1955) の論文で、異なる細胞が選択的に相互を認識し合い、接着することによって組織を形成することを体系づけた。彼らの実験は同時に **Wilson** (1907) の仮説を次の点で訂正した。

Wilson はカイメンを用いた実験で、細胞をばらばらに分離した場合、解離細胞は脱分化するが、再集合することによって再分化し、その結果組織形成に向かうと考えた。しかし、**Holtfreter** らの実験では、細胞は脱分化する必要はなく、単に同じ胚葉起原をもつ同種の細胞が接着し、再配列を示すに過ぎないことが明らかにされた。この見解は **Moscona** (1952, 1956, 1957, 1962, 1974,)、**Weiss**

and Taylor (1960)、Steinberg (1970) らの研究によってニワトリ、マウスなど胎生期細胞で広く支持された。

以上のような研究が動機となって、細胞間を接着する物質の分離、接着の選択性、あるいは特異性をめぐる検索が Balsamo and Lilien (1974)、Merrell, Gottlieb and Glaser (1975)、Oppenheimer (1975)、Shur and Roth (1975)、Hausman and Moscona (1976) らによってつづけられた。しかし細胞の接着については古くから静電的または van der Waals 力などの物理的な引力によるという一般的な見解が存在し、分子間の結合、化学的親和性、thermodynamic な結合など種々の仮説が発表されたが、いずれも接着の本態に迫る、科学的裏付けをもった学説とはならなかった。しかし 1977 年を迎えて、細胞接着分子 cell adhesion molecules (CAMs) としての高い可能性をもつ物質の抗体を用いて接着を阻害できることが判明し、候補物質が単離された (Brackenbury et al 1977, Thiery et al 1977, Gerisch 1977)。Letourneau (1975) は感覚ニューロンの成長円錐の伸長を培養条件下で観察し、その先端が明らかに基質に対し好悪の等級 hierarchy を示して選択しつつ前進し、接着することを認めている。Edelman (1976) はこのような学問的背景から接着分子を、それぞれの細胞によって合成され、細胞膜表面に分布して、特定の細胞間の集合と接着を通して形態形成 morphogenesis と組織形成 histogenesis に本質的な役割を果たす物質と意義づけた。

接着分子の研究はまず Edelman とその共同研究者によって精力的に進められ、細胞・細胞間の接着に関与する狭義の接着物質、すなわち細胞接着分子 cell adhesion molecules (CAMs) が細胞膜に組み込まれた糖タンパクとして、細胞膜表面に接着点を形成しているのに対し、さらに異なる様子で分布する接着分子が広く存在することが明らかにされた。この項の冒頭に記述した細胞間結合装置 junctional complex に存在するセメント物質は、細胞結合分子 cell junctional molecules (CJMs) とよばれる。また細胞外の基質中に広く分布し、細胞と基質または基質間を結合する分子を基質接着分子 substrate adhesion molecules (EMAMs) とよぶ。CAMs, CJMs, SAMs などいろいろなグループ分類される接着分子はそれぞれ特徴的な化学構造をもつ物質で、その分布域、分布量、遺伝子発現による産生時期とその存在の持続期間、接着機構を異にし、それが巧妙に組み合わせられて胎児期における形態形成や組織形成に重要な役割を演じ、また成長した個体にあっても形態の保持のみならず、障害された組織の修復や成長に深く関与している。神経系にあっては、成長円錐の前進に伴う軸索の伸長、神経経路の決定、シナプス形成に至る誘導と接着にも本質的な役割を果たしている (Edelman 1983, 1984, 1985, 1986, 1989, Takeichi 1988, Rutishauser and Jessell 1988, Linnemann and Bock 1989)。

B. 細胞接着分子

細胞接着分子 cell adhesion molecules, CAMs はいずれも細胞膜に組み込まれた糖タンパクである。CAMsのうち同一のCAMsの間にのみ特異的に結合するものを同(種)好性結合 **homophilic binding** とよび、異なる型のCAMとも結合する場合を異(種)好性結合 **heterophilic binding** という。1個の細胞が1個のCAMを所有するのではなく、多くの細胞は何種類かのCAMsをもっており、異なる様式による結合を示すことが可能である。ニューロンはすべて同一のCAMsを所有するのではなく、ニューロンによって、またその個性発生期間の時期によって異なる型のCAMを備えている。CAMsは近在の細胞間の結合に関与するが、SAMsは基質内にび慢性に分布しており、広範囲の細胞と基質の接着にあずかる。CAMsの分子は細胞膜表面から基質へ向かって長い細胞外ドメインを出しているが、形質内ドメインは細胞膜を裏付ちしているアクチン細糸系と連なっている。

CAMはその働きが Ca^{2+} 依存性か、非依存性かによって二つの群に大別される。前者は **cadherin family** に当たり、後者は **immunoglobulin superfamily** に当たる。

1) Cadherin family

Cadherin は Ca^{2+} 依存性の同種好性の接着分子で、723-748個のアミノ酸からなる124-127kDaの分子量をもつ糖タンパクである。**Cadherin**分子のC端は細胞質中に位置し、N端が細胞外に出て Ca^{2+} との結合部位をつくっている (Shirayoshi et al 1986, Takeichi 1988)。この分子をコードするcDNAのcloningはGallin et al (1987)、Nagafuchi et al (1987)、Hatta et al (1988)によって行われた。**Cadherin**にはE-cadherinとN-cadherinの亜型が存在するが、それぞれは同種性にしか結合しない。E-cadherinはきわめて早期の形態形成にとって重要な分子である (Hyafil et al 1980, Hyafil, Babinet and Jacob 1981, Shirayoshi, Okada and Takeichi 1983, Damsky et al 1983)。N-cadherinは体節somitesの形成期間中の中胚葉細胞の接着や中腎の形態形成にも利用されるが (Hatta and Takeichi 1986, Hatta et al 1987)、神経板を形成する神経上皮細胞には、E-cadherinの消失に代わって出現する。この接着分子は分化したニューロンには存在しない。神経堤起原の細胞では、その移動がはじまる前にN-cadherinは消失するが、目的に到達すると再び出現する。Tomaselli et al (1988)によれば、成長中の軸索はN-cadherinを所有し、それによってN-cadherinをもつニューロンまたは星状膠細胞に接着する。

2) Immunoglobulin superfamily

この型の接着分子としては神経細胞接着分子 **nerve cell adhesion molecule** (N-CAM)、グリア細胞接着分子 **neuroglia cell adhesion molecule** (Ng-CAM,L1) および一過性に軸索表面に出現する接着性の糖タンパク **transiently expressed axonal surface glycoprotein** (TAG-1) の3種が代表的分子として挙げられる。

N-CAM :

この分子は培養ニューロンにおいては同種の分子をもつ細胞の集合のみならず、軸索の伸長、近接して延びる軸索の集束 **fasciculation** にも関与する。N-CAM は 120kDa、140kDa および 180kDa の3種の糖タンパクから構成され、単一の遺伝子から **encode** される。3種の N-CAM の mRNAs はそれぞれ異なった様式の **splicing** によって産生される。N-cadherin についても同じ現象がみられるが、N-CAM の抗体によって培養ニューロンからの軸索の発芽や集束機能を阻害することができる。しかし、**laminin** のような基質接着分子で **coating** した基質上での軸索の伸長は抑制できない (Hoffman and Edelman 1983, Sadoul et al 1983)。N-CAM 抗体による集束の抑制は **in vivo** でも網膜視蓋路を形成する軸索の成長で認められている (Thanos, Bonhoeffer and Rutishauser 1984, Fraser et al 1984)。このことから N-CAM は胎生期における軸索の伸長に関与するが、誘導には直接的な働きをもたないとみられる。N-CAM はまた軸索と **schwann** 細胞間の接着に関与し、軸索の再生や髄鞘形成に重要な役割を果たしている。(Fawcett and Keynes 1990, Wood, Schachner and Bunge 1990)。

N-CAM は細胞外にあって同種好性の結合を示すN端を含む **immunoglobulin domain**、細胞膜を貫き形質内の C 端に至る **intracellular domain** およびそれらの中間に介在する **polysialic acid** の連鎖 (**fibronectin repeats**) からなる **extracellular intermediate domain** の三つの部分からできている (図VI-22)。中間部ドメインに当たる **polysialic acid** の量と N-CAM の結合力の強さとの間には反比例の関係があり、発生期間中にはその量が増加することによって働きが調節されていると考えられている。すなわち発生初期の神経上皮胚細胞と分化をとげたニューロンにみられる N-CAM 分子を構成する **polysialic acid** の量は少なく、したがって接着は強固であるが、移動中、あるいは突起を伸長中のニューロンにおける N-CAM の **polysialic acid** の量は多く、結合力はゆるい (Sunshine et al 1987, Rutishauser et al 1988)。

Ng-CAM (L1, NILE, 69A1) :

これは Ca^{2+} 非依存性の神経性接着分子で、Rathjen and Schchner (1984)、Faissner et al (1984, 1985)、Moos et al (1988)、Grumet and Edelman (1988) によってマウスとニワトリで発見された。Ng-CAM の分子量は 200kDa で、膜

貫通性の糖タンパクで、有糸分裂終了後のニューロンとグリア細胞に存在する。ただしマウスのグリアはこの分子をもたない。Grumet and Edelman (1988) は liposomes や covaspheres に Ng-CAM を組み込んだ場合の接着状態を観察し、この分子には homophilic な性質と heterophilic な性質とが共に認められるとしている。Ng-CAM の成長円錐の誘導と軸索に対する集束作用について Lindner, Rathjen and Schachner (1983)、Lindner et al (1986)、Fischer, Künemund and Schachner (1986) らが報告している。

TAG-1 :

これは Tessier-Lavigne et al (1988)、Furley et al (1988) らによって注目された接着分子で、胎生期の脊髄の交連性の介在ニューロンの軸索表面に分布している。彼らの研究によれば、後柱に存在するこの種のニューロンの軸索は、腹側に向かって伸長し、腹側の底板 floor plate に到達すると直角に曲がって反対側に入り、脊髄長軸に並行して縦走する。TAG-1 の発現が停止すると、代わって Ng-CAM が軸索の遠位部に出現する。そして軸索は集束されて縦走する神経束になる。このニューロンでは N-CAM も軸索のあちこちに分布している。TAG-1 の分子は N 端につづく immunoglobulin 様の反復からなるドメインと type III fibronectin の反復からなる中間ドメインからなり、N-CAM や Ng-CAM のような C 端につづく cytoplasmic なドメインを所有しない。そのため細胞膜とは glycosyl-phosphatidylinositol によって結合している。

Fasciclins :

Bastiani et al (1987) によってバッタとショウジョウバエから得られた糖タンパクで、その組成の違いから fasciclin I, II および III の三つの型が分けられる。これらは成長する軸索が相互に集合して、神経線維束を形成するのに役立つ分子で、**集束 fasciculation** に関与することからその名が与えられた。Fasciclins は軸索膜表面に分布し、軸索間を接着すると考えられ、immunoglobulin superfamily に属する分子として、細胞外に存在する immunoglobulin domain と C 端の cytoplasmic domain とからできている (Harrelsson and Goodman 1988)。

その他の細胞接着分子 :

上記の代表的な細胞接着分子のほかに、neuroglial, F11, apCAM, MAG などと命名された種々の物質が挙げられる。それらの構造形態は図VI-22 に模型的に示されている。

MAG (myelin associated protein) は中枢神経系のミエリン総量の 1% に当たるタンパク質で (Martini and Schachner 1986、Martini, Bollensen and Schachner 1988)、希突起膠細胞または Schwann 細胞と軸索との接着に関与している。ただしミエリンが完成し、膜と膜との密着化 compaction が進むと消失

する。MAGには long MAG (MAG-L) と small MAG (MAG-S) の2亜型が存在し、cytoplasmic domainをつくるC端のアミノ酸が後者では10個少ない (Salzer, Holmes and Colman 1987)。MAG-LもMAG-Sも中枢、末梢のいずれにも分布するが、前者は成熟期に多く、後者は胎生期に多く存在する。

C. 細胞基質接着分子

N-cadherin や N-CAM が細胞と細胞の間を接着する分子であるのに対し、細胞と基質との間の接着に当たる分子群を細胞基質接着分子 cell-matrix adhesion molecules とよぶ。これらの分子は、細胞外基質中に分布する分子を認識し、細胞と基質を結合するので、多数の異なる性質をもつ分子がこれまでに発見されている。

Integrin :

細胞・基質接着分子を代表する分子群の総括的名称として integrin という呼称が用いられる。この名称は、タンパクが細胞質の反応と協調する細胞外シグナル integrating extracellular signals の機能をもつ分子であることに由来する。

integrins は二つの異なる subunits, すなわち α -と β -subunits から構成された、細胞膜を貫通する糖タンパク分子で、subunits は、 α 、 β 共に化学的組成の上から多数の型に分かれる (Nermut et al 1988)。ニューロンや他の細胞が所有している integrins は、異なる型の α -と β -subunits のさまざまな組み合わせから構成され、その差異によって結合する基質の種類が変化する。ここに掲げた表VI-3は Reichardt and Tomaselli (1991) の研究に基づくもので、これから読み取れるように、異なる subunits の組み合わせからなる heterodimers をもつ細胞は、それぞれが異なる基質分子と特徴的な接着を示すこととなる。

異なる integrin 分子の特異抗体を用いて処理することによって細胞と特定基質タンパクとの結合は阻止される。このことからニューロンと基質の結合の分離は、それぞれのニューロンが産生し、保有する integrins の性質によって決定されると考えられる。この分子の細胞質ドメインは細胞膜を裏打ちする細胞骨格の talin, vinculin, α -actinin などのタンパクに直接に、また調節性の second messenger を介して間接に信号を送る。

ニューロンはその発生、成熟の経過中に種々の型の integrins を切り換えて発現させる。たとえば網膜神経節細胞の軸索は laminin の豊富な経路に沿って視蓋へ向かって伸長する。これらのニューロンは laminin に対し高度な親和性を所有する。しかし、Laminin 量の少ない視蓋に到達すると、このニューロンの laminin 受容体の接着性は低下し、軸索の伸長性は失われる。このように integrin に対する down-regulation が起こるのは、 α_6 -subunit をコードする

遺伝子発現がおさえられることによるとみられている。発生経過中にみられる **integrins** のニューロンにおける発現内容の変化は、培養下における軸索の **laminin** 表現への伸長性の差異を検定することから判断される。

細胞・基質間の接着分子の主体は **integrin family** に属する分子群であるが、それ以外にも同様な接着性によって軸索の伸長に促進的な影響力をもつ分子が存在する。例えば **galactosyltransferase** は細胞膜表面に存在する酵素で、これは **laminin** と結合し、そのC端側の分子鎖を変化させる。この酵素の働きを阻害したり、**laminin** を認識する **glycosyl** 基質の部位をこわすと、軸索の伸長を停止させることができる。

Adheron :

Schubert et al (1983) はニワトリ胚の網膜ニューロンから得られた **12S** の巨大分子で、**heparan sulfate proteoglycan** などの細胞外基質を構成する糖タンパクのほか4種以上の糖タンパクが一体となって構成している。**Adheron** は糸状足先端部に局在し、細胞外基質との接着に関与する分子と考えられている (**Tsui, Schubert and Klein 1988**)。この分子は、**fasciclins** や **protease** と協調し、成長円錐が標的へ向かって伸長し、標的を認識し、さらにシナプスを形成するのに重要な働きをする分子と考えられている。

D. 基質（間）接着分子

細胞間の接着や、細胞・基質間の接着に関与する分子が細胞膜に組み込まれた形で存在するのに反し、細胞から基質中へ放出され細胞外で基質間の接着を行う多数の分子群が見いだされている。これらを基質（間）接着分子 (**extracellular matrix adhesion molecules**) とよぶ。

Laminin :

この物質は成熟動物においては基底膜に限局して存在する接着因子で、**fibronectin** が細胞と結合組織を直接接着させるのに対し、細胞を基底膜を介して接着させるのに関与している (**Martin and Timpl 1987, Leblond and Inoue 1989, Yarchenco and Schittny 1990**)。Laminin は約 **850kDa** の大分子の糖タンパクで、1本のA鎖 (~**450kDa**) と2本のB鎖 (それぞれ~**210kDa**) から構成されている。これら3本の鎖は **S-S** 結合によって接着され、2本のB鎖はA鎖をコイル状に巻く部分と、これから離れて遊離している部分からなり、全体として **laminin** は1本の長腕と3本の短腕からなる十字架状の分子として認められる (図VI-23)。短腕にはそれぞれ2個の球状の膨大部があり、長腕の先端にも1個または2個の膨大部が存在する (**Hogan et al 1985, Ohno et al 1985**)。

Laminin 分子のうち長腕の末端部 (a) は軸索成長に関与する **fragment E8**

で、十字架の中心部、すなわち **fragment 1** の部位が細胞膜との接着に関与する **domain** である。B鎖からなる短腕の先端部にはIV型 **collagen** と結合する **domain** がある (Hakomori et al 1984)。このように **laminin** は一方で細胞に、他方で基底板上に結合し、物質としては **laminin** 相互間、細胞表面の **proteoglycan** や **integrin** 受容体と相互作用を行う。培養条件下では、**laminin** は 10–100ng/ml 濃度で軸索伸長を促進する働きをする。

末梢神経の形成に当たって、**laminin** の存在は重要で、軸索はこの分子を介して標的細胞と相互に作用し合う。培養ニューロンにおける実験的研究では、**laminin** がニューロンの生存と突起の伸長を促進する働きのあることが知られている。前記のようにA鎖の先端にある球状部とそれにつづく **fragment E8** とよばれる部位がその働きをもっている。したがってA鎖先端球状部 (**fragment 3**) の抗体を用いて **fragment E8** を処理すると、培養ニューロンの軸索の伸長は抑制される (Edgar, Timpl and Thoenen 1984)。A鎖先端の球状部は **heparin** 結合 **domain** でもある。このことから **laminin** は、この部分で **integrin** 受容体とは別個にニューロンの軸索表面に存在する **heparan sulfate proteoglycan** と結合することによって、細胞の生存と突起の伸長に有効な働きをもつと推測されている。

Bixby and Jhabvala (1990) は、**laminin** を基質としてニューロンを培養するとき、**protein kinase C** の阻害剤である **H7** を与えると、濃度依存性に突起の伸長が抑えられ、逆に酵素作用を賦活する **phorbol ester**, **1-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)** を与えると、基質の **laminin** 濃度が至適濃度より低くても突起の伸長が促進することを認め、**laminin** の作用が **protein kinase C** を介して細胞内情報伝達系に影響すると考えている。

脊髄神経や脳神経の伸長に対して、**laminin** が突起の伸長と誘導に関与していることは Sanes, Schachner and Covault (1986)、Rogers et al (1986)、Krotoski, Domingo and Bronner-Fraser (1986)、Riggott and Moody (1987)、Lander (1987)、Sephel, Burrous and Kleinman (1989) ら多くの研究者によって認められた。しかし **laminin** は成熟動物の中樞神経系では存在せず、胎生期にのみ一過性に低濃度で存在することが知られている (Alitalo et al 1982、Liesi 1985、Madsen et al 1986、McLoon et al 1986、Cohen et al 1986, 1987、Letournean et al 1988)。網膜の神経節細胞の培養実験では、これらのニューロンは胎児期に軸索の成長中は **laminin** 様抗体に対して免疫組織化学的反応に陽性を示すことが Liesi (1985)、McLoon et al (1986)、Cohen et al (1986) によって報告されており、幼若な個体では、機能的にも **laminin** の軸索伸長促進効果に反応することが明らかにされている (Hall, Neugebauer and Reichardt 1987、Halfter, Reckhaus and Kröger 1987)。

なお laminin は末梢神経系における軸索の伸長に大きな機能的意義をもつが、この分子は神経堤由来の細胞の移動に際し、誘導の役割を果たすことが Newgreen and Erickson(1986)、Duband and Thiery (1987)、Perris, Paulsson and Bronner-Fraser (1989) らによって報告されている。

Thy-1 protein :

中枢神経系においては laminin が欠如するが、これに代わる物質として Thy-1 とよばれるタンパクが注目されている (Morris 1985, Bolin and Rouse 1986, Greenspan and O' Brien 1989)。Leifer et al (1984) はタンパクの抗体がラット網膜の神経節細胞の突起の出芽と伸長を促進する働きをもつことを明らかにした。Messer, Snodgrass and Maskin (1984)もまたマウスの培養 Purkinje 細胞の生存を延長させると報告している。Thy-1 分子の末端に存在する cysteine は、phosphatidylinositol を含む膜糖脂質と結合することによってニューロンの形質膜の表面に接着している。Hokin (1985) によれば、この種の接着は second messenger に仲介され、細胞膜を通過する signal transduction に関与する。このことは、Thy-1 が小脳の登上線維のように非常に長く伸びた軸索に局在していることから承認される。

Fibronectin :

これはそれぞれ~220kDa の2本の polypeptide が S-S 結合によって複合されたタンパクで、基底膜や間質中に広く分布し、末梢神経の軸索の伸長を促進させる作用をもっている。このタンパクは laminin と同様、成熟した脊椎動物の中枢神経組織には存在しないが、胎生期には一過性に出現することがわかっている (Yamada 1983, Furcht 1983, Hynes 1985, Chun, Nakamura and Shatz 1986, Pearman, Kim and Schmitt 1986, Lander 1987, Dufour et al 1988)。Fibronectin は合成の過程で splicing の切り方、翻訳後の修正などで多数の類似の subunits が生じるので、厳密にはその分子構造の内容は一致していない。したがって異なる構造をもつ fibronectin はそれぞれ多少とも異なる機能をもつと考えられる。fibronectin の軸索伸長に対する促進作用は laminin に比較するとやや弱い。この物質は末梢神経系ではすべてのニューロンに対してその成長を刺激するが、中枢性ニューロンには作用しない (Baron-van Evercooren et al 1982, Rogers et al 1983)。

Fibronectin の作用は、このタンパクの抗体を与えることで完全に遮断されることが培養ニューロンで確かめられている (Bozyczko and Horwitz 1986, Hall, Neugebauer and Reichardt 1987, Letourneau et al 1988)。Ruoslahti and Pierschbacher (1986, 1987)、Hynes (1987) らは、fibronectin 抗体が、細胞表面に分布する laminin と fibronectin の受容体である integrin と反応することが認めている。Laminin と fibronectin 分子には共に Arg-Gly-Asp-Ser

(RGDS) の配列を示す部分がある。RGDS は細胞接着 domain で、この部分が integrin family に属する細胞膜受容体によって認識される。Fibronectin の効果は成長円錐の表面に局在する integrin-family からなる受容体によって仲介される。この受容体は、成長円錐と糸状足の細胞膜の内面に分布するアクチン細糸と関連している (Buck and Horwitz 1987、Hynes 1987、Ruoslahti and Pierschbacher 1987)。

神経堤由来の細胞は laminin, fibronectin および collagen を含む人工基底膜上を移動する。この移動は RGDS を阻害する合成ペプチド Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg (YIGSR) によって抑制される (Bilozur and Hay 1987)。

その他の基質接着分子：

Tenascin (J1, cytotactin)、thrombospondin などの分子が細胞外基質中に分布する接着分子として挙げられる (Lander 1989, Reichardt and Tomaselli 1991)。Tenascin は fibronectin と同様 type III fibronectin repeats を多数含み、また tenascin と thrombospondin は laminin と同様 cystin に富む epidermal growth factor (EGF) -like domains を多数含んでいる。これらはそれぞれ決まった細胞との結合部 cell-binding domains, heparan sulfate proteoglycan との結合部 heparin-binding domains を所有している。

種々の細胞外基質に分布する接着分子の機能的意義について、Grumbacher-Reinert (1989)、Masuda-Nakagawa and Nicholls (1991) らはヒルのニューロンを培養し、concanavalin A で coating した培地上で tenascin や laminin を含む基質と軸索の伸長との関連を詳細に観察した。その結果、これら二つの接着分子は軸索の伸長に支持的役割を果たすのみならず、伸長のパターンに影響を与え、また細胞膜上の Ca チャネルの分布にも関与することを明らかにした。また異なる種類のニューロンはそれぞれ独自の方法で特定の基質接着分子に反応し接着する。このことから生体内にあって、接着分子の種類は必ずしも多くはないが、わずかな接着分子がニューロンの多様な動的変化を誘発することができることがわかる。

基底板：

上皮細胞、内皮細胞、筋細胞、脂肪細胞などの結合組織に相対する表面には、銀好性の境界膜が存在し、古くから基底膜 basal membrane とよばれてきた。またこの膜に一致して PAS 反応が陽性を呈することから、組織化学的に多糖類がこの膜の主要な成分をなしていると推測されてきた。電子顕微鏡的研究が進むにつれて、基底膜は、電子密度の高い緻密層 lamina densa を中心に、これと細胞との間の明るい透明層 lamina lucida または lamina rara, および結合組織側の網状層 lamina reticularis の3層が区別されるようになった。緻密層はIV型 collagen からなる層で、狭義の基底板 basal lamina とよばれる。網状層はIII型

collagen が付着する層で、結合組織に移行している。3層からなる基底膜の厚みは 50-100nm で、光顕的にも、電顕的にも連続する膜として認められる。これまでこの菲薄な境界膜を基底膜と表現してきたが、近年は基底板 basal lamina という語を広義に用い、3層を含めてよぶことが多くなった。そのため本書ではもっぱら基底板を広義に用い、従来の基底膜の語に換えて使用している。

基底板は化学的にはIV型 collaegn を主体に、V型 collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan (mucopolysaccharide の一種)、entactin などから構成されている。硬タンパクに属する collagen は、哺乳類では全タンパク質の 25% を占める重要な成分で、3本の α 鎖とよぶ collagen-polypeptide 鎖が規則的に組み合わさった超螺旋構造を示す。I、II および III 型 collagen は原線維コラーゲン fibrillar collagen で、細胞外で膠原原線維 collagen fibrils を形成するのに対し、IV型 collagen は基底板に限局して存在するもので、布状の網目構造を示し、原線維にはならない。

透明層には細胞膜と緻密層を橋渡しする細いフィラメント anchoring filaments が存在し、網状層には特徴的な横縞をもつVII型 collagen からなる架橋原線維 anchoring fibrils が存在する。これらの架橋構造によって細胞は結合組織に接着されている (Reene et al 1987)。一般に laminin は透明層に多く分布し、細胞と基底膜の接着に当たり (Tohyama and Ide 1984)、proteoglycan は緻密層の両側に存在するが、とくに網状層に多いことが Schwann 細胞の基底板について認められている (Yokata, Tohyama and Ide 1983)。

末梢神経では Schwann 細胞による鞘の外表面に沿って基底板が存在し、それは Ranvier 絞輪の部位も途切れることなく連続している。中枢神経組織ではグリア細胞は原則的に基底板をもたない。星状膠細胞が軟膜および血管に相対する部位にのみ基底板が形成される。Laurie, Leblond and Martin (1982) によって明らかにされたように、IV型 collagen は上皮細胞ではその粗面小胞体において生産され、細胞の基底面から放出される。発生初期の Schwann 細胞は、筋細胞などと同じように基底板をもっていないが、成熟するにつれてその外表面に基底板を形成する。このことは幼若な細胞は結合組織と直接する能力をもつが、成熟するとその機能を失い、基底板を介して間接的に接着することになることを示している。

基底板は、細胞を結合組織に接着させるという働きをもつと同時に、細胞に極性 polarity を与え、細胞への物質の供給に際して物質交流のためのフィルターとして機能し、あるいは細胞の分化に対してもなんらかの影響をもつと推測されている。また本項に記述したように、軸索の再生と伸長に対してその経路としての足場を提供することを示している (Ide et al 1983)。このような基底板の種々の機能的役割については Vracko (1978) が骨格筋細胞、血管内皮細胞、

肺胞上皮細胞など種々の細胞を材料として詳述している。

(佐野 豊著、神経科学、1985年)

●RGD配列 [RGD sequence]

RGD配列は細胞接着活性をもつ代表的なアミノ酸配列で、Arg-Gly-Asp (一文字表記でRGD) から構成される。1984年、E, Ruoslahtiにより、細胞接着分子フィブロネクチンの機能部位として、テトラペプチドRGDSが同定された。その後、S (Ser) だけはA (Ala)、T (Thr)、V (Val) などで代用できることがわかり、RGDが最小機能単位とされた。このRGD配列はビトロネクチン、フィブリノーゲン、ラミニン、コラーゲン、テネイシン、フォンウィルブランド因子、オステオポンチンなどの他の細胞接着分子の機能部位としても、共通に存在している。

RGD配列をもつ細胞接着分子は、細胞外マトリックスと細胞との接着や細胞どうしの接着に関与しているリガンド蛋白質であり、そのレセプターは細胞表層に存在するインテグリンファミリーとよばれる蛋白質群である。各々の細胞接着分子には、RGD配列のほかに第2のインテグリン結合部位が推定されているが、RGD配列だけでもかなりの親和性をもってインテグリンに結合できる。このように機能部位がRGDというきわめて簡単な、しかも連続したアミノ酸配列に収束できることは、他のリガンドレセプター系にはない特徴である。

RGD配列は100種以上の蛋白質にその存在が認められているが、細胞接着機能を示すものは上記の細胞接着分子と総称される少数の蛋白質に限定される。この事実から、RGD配列がインテグリンと結合し接着機能を発揮する際、RGD領域が蛋白質分子表面に露出しているだけでなく、ある特定の機能構造をとっていることが容易に想像できる。RGD配列が関与する細胞接着現象は、多細胞生物の発生と形態形成に不可欠であるとともに、臨床的にも、創傷治癒、血栓形成、骨吸収、癌転移などの病態の場において重要な役割を演じていることが知られている。したがって現在、このRGD配列の機能構造は、医薬品開発の主要なターゲットの1つになっている。

[→pp.31-41 山田隆央]

RGD [配列] (分生KW辞典)

トリペプチド, Arg-Gly-Aspのアミノ酸配列を一文字表記したもの (Arg=R:アルギニン, Gly=G:グリシン, Asp=D:アスパラギン酸). フィブロネクチン, ビトロネクチン, ラミニン, コラーゲン, オステオポンチン (osteopontin), トロンボスポンジン, ヴォンビレブランド因子 (von Willebrand factor) などの細胞接着性糖タンパク質 (cell-adhesive protein) の細胞接着活性部位の活性最小単

位ペプチド。

1980年代前半、フィブロネクチンの細胞接着活性部位をM.D.PierschbacherとE.Ruoslahtiが追求し、Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) のテトラペプチドに細胞接着活性を認めた。その後、S (Ser)はV (Val), T (Thr), A (Ala)でも活性が変わらないことから RGD が本質的な細胞接着活性ペプチドであると結論された。RGD配列は、フィブロネクチンだけでなく、上に示すようないろいろなタンパク質に含まれている。また、RGDペプチドによる細胞接着は、動物細胞のほか原核生物、植物細胞でもみられ、生物界に普遍的である。ただし、RGD配列を含んでも、細胞接着活性を示さないタンパク質もある。RGD配列を認識する動物細胞表面のレセプターはインテグリン (→インテグリンファミリー) で、現在約25種類発見されている。in vitro 実験では、RGD配列を含むペプチドを基質に固定すると、細胞はこのRGD配列を認識し個室に接着する。逆に、細胞接着性糖タンパク質を被膜した基質への細胞接着は、溶液中に加えたRGDペプチドで阻害を受ける。in vivo では、この合成ペプチドを両生類の後期胞胚に注射すると、フィブロネクチン抗体を注射した場合と同様の原腸胚形成異常が生じる。また、マウスでは、メラノーマ細胞の癌転移をRGDペプチドが阻止する。

細胞内シグナル伝達

GTP 結合蛋白質 (G蛋白質) 情報伝達系の中核を占めている。受容体 (receptor) とは、細胞外情報を細胞内情報へ転換する機構の名称ともいえる。G蛋白質はこの受容体と協力して情報の転換に重要な役割を果たしている。[受容体は、細胞膜上のみならず、細胞質内または核内にも存在することが知られている。] 圧倒的多数の細胞外情報物質 (neurotransmitter, hormon, autacoid) は、細胞膜受容体を外側から刺激し、多くの場合はG蛋白質を介して細胞内情報を生起させる。細胞膜を発した細胞内情報物質 (俗にセカンドメッセンジャーと呼ばれる) は、結局、細胞内の機能蛋白質を標的として、それに一種の化学修飾を施し、その機能を変化させる。この機能蛋白質が迅速かつ可逆的なコンフォメーション変化によってその機能の程度 (活性) を変化させたものが、真の細胞機能に反映される。この真の活性状態を「演出型 (dramatype)」と呼ぶ。すなわち、細胞膜受容体を発した細胞内情報物質の標的は表現型 (phenotype) であり、この細胞内情報によって初めて演出型が生成

すると考えられる。表現型に施される化学修飾のうち、おそらく最も重要なものは、リン酸化である。このような、陰性荷電の付加によって蛋白質のコンフォメーションが変化し、その活性が変化するものと思われる。(宇井理生)。

GTP-binding protein, G-protein

● Gタンパク質 G protein

①おもに細胞膜において、膜を隔ててのシグナル伝達にあずかる一群のヘテロ三量体タンパク質。 α サブユニットは分子量約4~5万のGTP結合タンパク質であり、Gタンパク質の名前はここに由来する。 β サブユニットは分子量約3.5万、 γ サブユニットは分子量約1万で、 $\beta\gamma$ 複合体としてかなり強固に膜に結合している。どのサブユニットにも多様性があるが、特に α サブユニットには何通りものサブクラスが存在し、生物種によって、またどのようなシグナルを伝えるかによって、そのバリエーションはさまざまである。

代表的な例として、哺乳動物細胞においてアデニル酸シクラーゼの活性化に働くGsのモデルを図(次頁)に示す。他に、アデニル酸シクラーゼに阻害的に働くGi、神経細胞に多くみられるGo、光受容細胞に存在しcGMPホスホジエステラーゼの活性化を行うGt(トランスデュシン)などよく知られている。 α サブユニットは、休止状態ではGDP結合型(不活性化)で $\beta\gamma$ サブユニットとともに膜に結合しているが、レセプターにリガンドが結合するとこれが引き金になってGTP結合型(活性型)に変換し、 $\beta\gamma$ サブユニットから解離すると同時に下流のカスケード反応のスイッチをONにする。やがてGTPアーゼ活性が発現して不活性型のGDP型に戻るまで、シグナルは下流に伝えられ続ける。一般にGタンパク質のすぐ下流でシグナルを受け取る分子をエフェクターとよぶが、Gsの場合、エフェクターに当たるのはアデニル酸シクラーゼで、さらにcAMPの合成、Aキナーゼ(プロテインキナーゼA)の活性化へと反応は進む。下流にシグナルを伝える役割は、多くの場合 α サブユニットがになっているが、むしろ $\beta\gamma$ サブユニットの方が主体であるような例(例えば酵母のGタンパク質)も見出されている。 α サブユニットの機能を修飾するようなさまざまな物質が知られており、例えばコレラ毒素はGs α に作用して活性型に固定する。百日咳毒素はレセプターとGi α 、Go α の相互作用を遮断する効果がある。Gタンパク質の各サブユニットをコードする多数の遺伝子が、すでにさまざまな生物種よりクローン化され、構造が決定されている。→シグナル伝達

②広義にはGTP結合タンパク質全般をGタンパク質とよぶ。例えば、①の狭義のGタンパク質を高分子Gタンパク質(large G protein)、rasタンパク質のような分子量2~3万のものを低分子Gタンパク質(small G protein)とよぶこ

とがある。

●シグナル伝達 signal transduction [細胞情報伝達]

細胞外にあって情報を含んだ生理活性物質（典型的にはホルモンや神経伝達物質）が、レセプターに結合し細胞へなんらかの手段で情報を伝えることをいう。細胞が正しく機能していくためには、自分の遺伝情報の時間表に則した活動をしているだけでなく、外界のシグナルをキャッチして反応し、それに合わせた遺伝子発現をしていかなければならない。外界のシグナルは主にレセプターとよぶタンパク質でキャッチされる。それぞれのレセプタータンパク質は、それぞれの化学物質と特異的に（低い濃度でも）結合する。

この細胞外の化学シグナル物質をアゴニストとよび、一方この結合を特異的に遮断する物質をアンタゴニストとよぶ。

レセプターは、(I) それ自身イオンチャンネルを形成しているもの（典型的には筋肉の収縮に関与するニコチン性アセチルコリンレセプター）、(II) GTP結合タンパク質と相互作用しシグナルを伝えるもの、(III) 細胞内タンパク質のC末端側にリン酸化を行うキナーゼ酵素活性をもつものに大別されるが、(IV) レセプター自身の細胞内への取り込みインターナリゼーションが機能と直結する場合もある。

(I) の様式によるシグナルのキャッチは、直ちにイオンの透過性の変化として現れ、膜の過分極や脱分極を生じ、電気シグナルの新たな発生や変調（モジュレーション）、収縮、分泌などを短期間に行い応答は終了する。

(II) の様式は、代謝を伴う様式で、GTPの加水分解を行う酵素がエフェクターとよばれる酵素を活性化することにより、外界のシグナルが細胞内セカンドメッセンジャー（例えばサイクリックAMP；cAMP）に伝えられる。狭義には、この経路（R→T→E→セカンドメッセンジャー；Rはレセプター、Tはトランスデューサー〔GTP結合タンパク質〕、Eはエフェクター〔アデニル酸シクラーゼなどの酵素〕）を指して情報交換、伝達ということもある。タンパク質の相互作用によりレセプタータンパク質はGTP結合タンパク質を活性化する。レセプターとエフェクターであるアデニル酸シクラーゼの間にGTPが関与していることはRodbellとBirnbaumにより提唱された（1970）。GTP結合により活性状態を示し、GTP分解酵素により不活性状態となるタンパク質が介在していることがわかり、GilmanによってGTP結合タンパク質と名づけられた。アデニル酸シクラーゼの活性を上昇させるS型（Gs）と抑制するI型（Gi）などが知られている。コレラ菌や百日ぜき菌の毒素はこのタンパク質の機能を低下させる作用をもっている。（→Gタンパク質）。

またエフェクターがホスホリパーゼCである場合には、イノシトール三リン酸とジアシルグリセロールが生成されてセカンドメッセンジャーとして作用する(→イノシトール回転、ジアシルグリセロール)。これらのセカンドメッセンジャーはタンパク質リン酸キナーゼ(AキナーゼやCキナーゼなど)を活性化するcAMPの上昇に伴い、ペプチドホルモン(例えば血管作動性腸管ペプチド、VIP)の合成が開始される。これは、DNA結合タンパク質がcAMP依存性キナーゼによりリン酸化されてDNAに結合し、mRNAの合成を促進するためと考えられている。このように、外界のシグナルは、一連の分子的伝達により遺伝子にまで到達する。ジアシルグリセロール(DG)やI(1,4,5)P₃により活性化されるCキナーゼにより、FosやJunなどの癌遺伝子産物がDNAに結合して、RNA合成あるいはDNA合成の開始を調節する。

(III)の様式は、アゴニストによるレセプター結合がGTP結合タンパク質を経由しないで、レセプター自身のタンパク質リン酸化酵素作用によって、細胞内タンパク質のリン酸化を行い、DNAに情報を伝える。(→上皮増殖因子、インスリン)

(IV)の様式は、レセプターにアゴニストが結合した状態で情報をもって入り、細胞内の別のレセプターがそのアゴニストを感知し、情報が伝達される(→LDLレセプター、ステロイド)。

このように細胞外のシグナルは大別して、4種類の異なる方法で細胞内に伝達される。最近では、代謝型のシグナル伝達が細胞内Ca²⁺濃度の振動をもたらし、シグナルを増幅、確実化することもわかってきた。

●セカンドメッセンジャー second messenger [細胞内情報伝達物質 intracellular messenger]

細胞内で信号の伝達の役をになう物質群。生体内の細胞外で情報伝達を行う物質、例えばホルモンや神経伝達物質などのファーストメッセンジャー(この表現はそれほど用いられていない)を細胞表面のレセプターがキャッチして、GTP結合タンパク質などを介し、エフェクターとよばれる酵素を活性化した結果、一時的にセカンドメッセンジャーとよばれる低分子量の物質が細胞内に増加する。その増加により、次のステップ(プロテインキナーゼなどの活性化)へ信号が伝達される。増加したセカンドメッセンジャーは分解酵素により速やかに元のレベルへ戻り、次の刺激に対応する。まとめると図のような流れが細胞外の情報を細胞内の信号に変換し、仲介する。

セカンドメッセンジャーの代表である環状AMP(cAMP)を例にとるとアドレナリンなどで細胞を刺激すると、アデニル酸シクラーゼが活性化され、細胞

内 cAMP の濃度が数倍～数十倍増加する。cAMP は cAMP 依存性プロテインキナーゼを活性化し、細胞内反応に必須な機能タンパク質をリン酸化（活性化）する。そしてホスホジエステラーゼにより cAMP は分解される。

細胞内シグナル伝達（レセプター・キナーゼ、図）

膜受容体の種類と機能

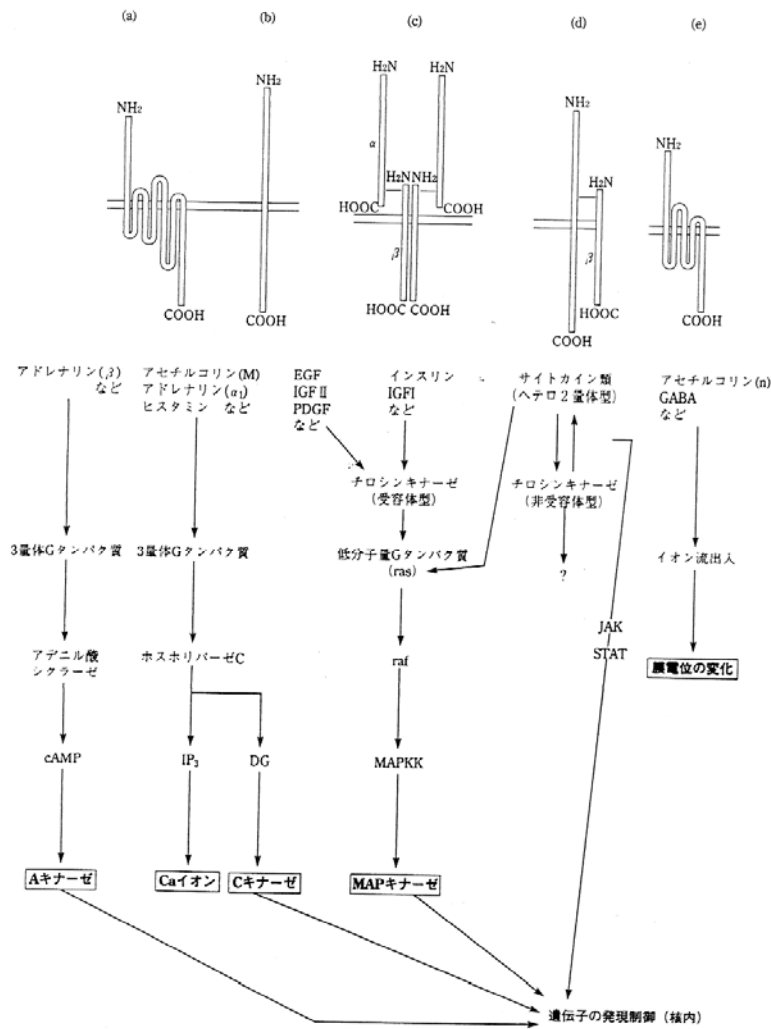
水溶性、脂溶性情報伝達物質を受容する膜受容体は、受容体構造とシグナル伝達様式から大まかに分類することができる。①に示すように膜受容体の構造からは大体5つに分類することができる。これらの受容体の細胞膜貫通領域は22～26個のアミノ酸からなっている。7回膜貫通型受容体には、アドレナリン、ムスカリン様アセチルコリン、ロドプシン、プロスタグランジン受容体などが知られている（①a）。EGF、PDGF、IGF、NGFなどの受容体は、細胞膜貫通1回の単一ペプチドである（①b）。サイトカイン受容体は2つのサブユニット（ホモあるいはヘテロ2量体）からなる（①d）。インスリンやIGF-1受容体は、 α 、 β 2種のサブユニットが4個集まったヘテロ4量体（ $\alpha_2\beta_2$ ）だが β -サブユニットのみ膜貫通する（①c）。ニコチン様作用アセチルコリン受容体は、各サブユニットには4～5回膜貫通した5個のサブユニットからなり、イオンチャネルを形成する。このようにイオンチャネル内臓型受容体には他に GABA、グリシン、グルタミン酸受容体など神経系に働くものがある。これら受容体はリガンド結合によって引き起こされる構造変化により選択的なイオンチャネルが開閉し、その結果電気信号を発するものである（①e）。

一方前半の4つのタイプの受容体は、リガンド結合後に2次メッセンジャーに増幅され、キナーゼが活性化、酵素などをリン酸化することで生物反応が現れる。したがって膜受容体からの情報伝達は、キナーゼ（A、C、MAPK）の種類によっても分類することができる。A キナーゼを活性化する受容体はリガンド結合後 GTP 結合タンパク質（G タンパク質、No. 25 参照）が活性化され、その結果アデニルシクラーゼが活性化される。その結果 ATP から cAMP が2次メッセンジャーとして合成され A キナーゼ（No. 32 参照）が活性化される（①a）。このタイプにはグルカゴンなどのペプチドホルモン、アドレナリン（ β ）、ヒスタミンなどの7回膜貫通型の受容体がある。一方同じ7回膜貫通型であるアドレナリン（ α ）やムスカリン性アセチルコリン受容体ではリガンド結合後 G タンパク質を介し、まずホスホリパーゼCが活性化される。この酵素は細胞

膜のイノシトールリン脂質の加水分解 (No. 26 参照) を促進し、イノシトール三リン酸 (IP_3) とジアシルグリセロール (DAG) が生じ、 IP_3 は受容体を介し Ca イオンの動員、DAG は C キナーゼを活性化することでシグナルを伝える (① b)。一方増殖因子 (PDGF、EGF、インスリンなど) 受容体群には自身にチロシンキナーゼを有するか、または細胞内面で非受容体型チロシンキナーゼと会合している。これらチロシンキナーゼは低分子量 G タンパク質である *ras* を介し、MAP キナーゼが活性化される (① b, c, d,)。その結果細胞増殖に重要な因子がリン酸化活性化される。一方 TGF β 受容体のように自身にセリン/スレオニンキナーゼ活性があるものも見出されているが、細胞内情報機構は明らかでない。

このような細胞内情報伝達を行う狭義の意味での受容体の他に、LDL やトランスフェリンなどのリガンドを取り込むための受容体や、細胞外マトリックスと細胞骨格を結びつけるインテグリン受容体群などがある。

図解、生物科学構造 (1998)、分子生物学 (村松 正実編著)。朝倉書店



プロテインキナーゼ概要

リン酸化はタンパク質の主要な翻訳後修飾反応の1つであり、真核細胞においては細胞内タンパク質の多くがリン酸化されている。プロテインキナーゼはATPの γ 位のリン酸をタンパク質のセリン、スレオニン、チロシンなどの水酸基に導入する反応を触媒する酵素である。プロテインキナーゼに対しタンパク質中のリン酸基を外す酵素も存在し、これはプロテインホスファターゼ（タンパク質脱リン酸化酵素）とよばれる。多種のプロテインキナーゼとプロテインホスファターゼが存在する。タンパク質リン酸化反応は瞬時にかつ可逆的に起こり、タンパク質の活性制御の主要な様式として細胞内情報伝達の基本的な素過程の1つとなっている。

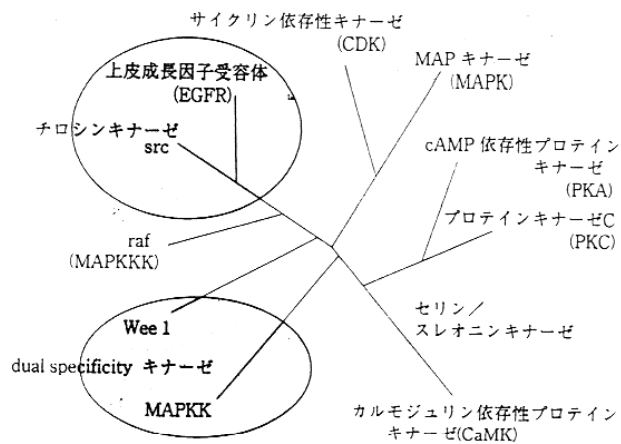
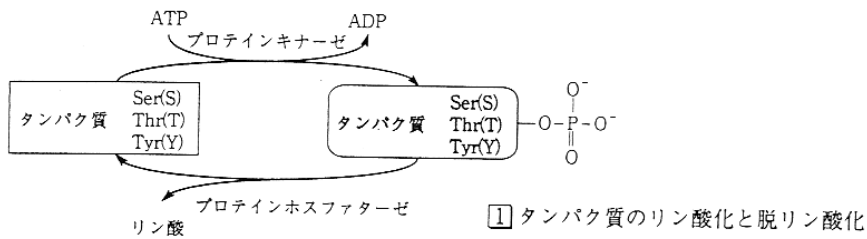
真核細胞にはきわめて多様なプロテインキナーゼが存在する。リン酸化するアミノ酸残基の特異性から、セリン/スレオニン残基に特異的なセリン/スレオニンキナーゼ、チロシン残基に特異的なチロシンキナーゼ、セリン/スレオニン/チ

ロシンすべてをリン酸化する両特異性キナーゼ (dual specificity kinase) に分類される。すべてのプロテインキナーゼは進化的に保存されたキナーゼドメインを有する。チロシン特異的なチロシンキナーゼは単細胞の酵母等では見出されず、多細胞生物に特有である。それ以外の多くのキナーゼは酵母にも相同なキナーゼが存在する。多くのキナーゼはキナーゼドメインに加え、それぞれ固有の制御ドメインを有し、その活性化様式が異なる。

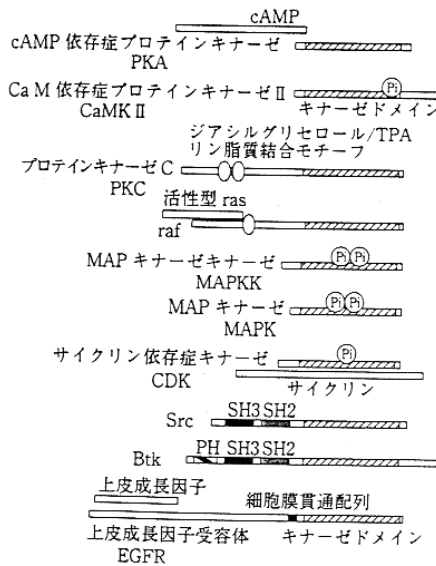
細菌には上述のプロテインキナーゼとは全く異なるプロテインキナーゼが存在し、刺激応答の中心となっている。これは自身のヒスチジン残基にリン酸基を導入するヒスチジンキナーゼと、そのリン酸基をアスパラギン酸残基に受け取るタンパク質であり、二要素系とよばれる。酵母や下等真核生物でもこの系が存在し、動物細胞にも存在する可能性がある。

細胞内情報伝達におけるタンパク質リン酸化の重要性は、肝臓における糖代謝のホルモン調節の作用機作の研究から明らかとなった。その過程で、cAMP という細胞内 2 次伝達物質によって活性化されるプロテインキナーゼ (cAMP 依存性プロテインキナーゼ)、複数のプロテインキナーゼを介したキナーゼカスケード反応の存在が生化学的に明らかにされた。その後、細胞膜リン脂質の代謝産物や発癌プロモーターによって活性化されるプロテインキナーゼ (プロテインキナーゼ C)、カルシウムにより活性化されるカルシウムカルモジュリン依存性プロテインキナーゼ等が同定された。一方、癌遺伝子産物の多くがプロテインキナーゼであること、さらに多くがチロシン特異的なキナーゼ (チロシンキナーゼ) であること、また上皮成長因子を初めとする細胞増殖因子の受容体がチロシンキナーゼをコードしていることが見出された。さらに、酵母の細胞周期変異体の解析から、細胞周期の調節因子の多くがプロテインキナーゼをコードしていることも明らかとなった。種々の刺激で共通に活性化されるプロテインキナーゼカスケード (MAP キナーゼカスケード) も複数存在する。

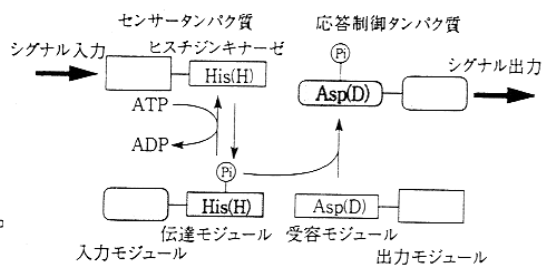
図解、生物科学講座 (1998), 分子生物学 (村松 正実編著)



② キナーゼドメインの一次構造の相同性を基に作った動物の代表的なプロテインキナーゼの系統樹



③ プロテインキナーゼの構造模式図



④ 原核細胞のヒスチジンキナーゼと二要素系 *Cell*,73,857-871(1993)から改変

Aキナーゼ, Cキナーゼ, CaMキナーゼ

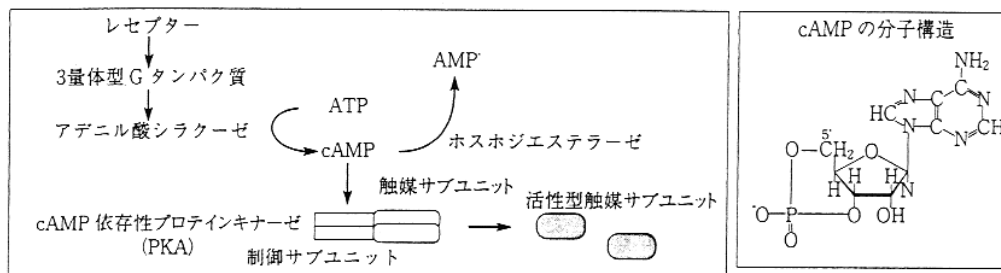
3量体型Gタンパク質 (GTP結合タンパク質) に共役した受容体の多くは特定のGタンパク質を介してアデニレートシクラーゼを活性化し、その結果 ATP から cAMP を生ずる。この cAMP の標的タンパク質が cAMP 依存性プロテインキナーゼ (PKA, Aキナーゼ) であり、cAMP を介する反応をになっている。PKA は種々のホルモン神経伝達物質の作用を媒介し、上述のグリコーゲン分解などの代謝調節以外にも多彩な細胞機能に関与している。cAMP/PKA を介する情報伝達経路はホルモン刺激から遺伝子発現調節に至る経路が明らかにされた経路としても重要である。種々の遺伝子が cAMP/PKA 経路で転写調節を受ける。これらの遺伝子上流領域には cAMP 応答性の転写シス因子 (CRE, cAMP response element) が存在する。CRE に結合する転写調節因子として CREB (CRE binding protein) を初めとする多数の関連転写因子が単離、同定されている。活性型 PKA (触媒サブユニット) は核内に移行し、CREB を直接リン酸化し活性化する。

カルシウムは真核細胞においてきわめて重要な細胞内情報伝達物質である。カルモジュリンは多種ある細胞内カルシウム結合タンパク質の代表格であるが、このカルシウム/カルモジュリン複合体を認識し、活性化されるプロテインキナーゼが CaM 依存性プロテインキナーゼの一群である。ミオシン軽鎖キナーゼや、PKA によって活性化されるグリコーゲンホスホリラーゼキナーゼもカルシウム/カルモジュリン依存性のキナーゼである。基質特異性がより広く、多くの細胞や脳でカルシウム作用の多くをになっているものがカルシウム/カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaM キナーゼ II) である。

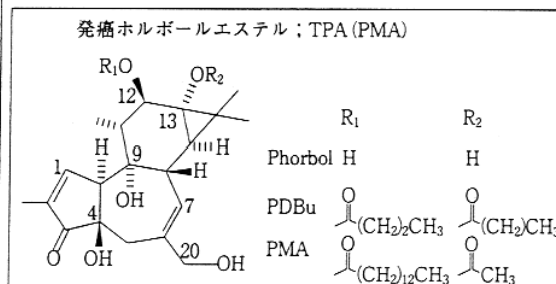
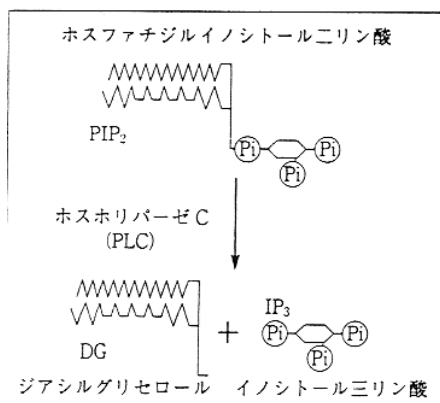
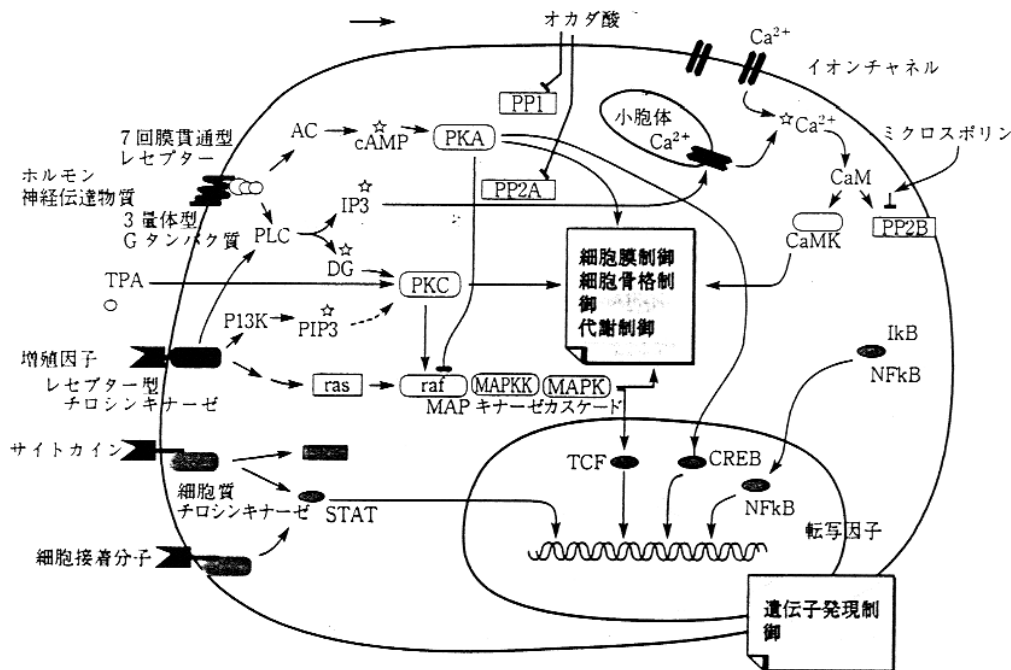
外界シグナルは多くの場合、膜リン脂質の代謝を誘導し種々の脂質性セカンドメッセンジャー分子を生ずる。この中でその意義が最もはっきりしているものがジアシルグリセロール (DG) であり、細胞膜リン脂質の微量成分、ホスファチジルイノシトール-4, 5-二リン酸 (PIP₂) がホスホリパーゼ C (PLC) によって分解され、IP₃ と同時に生成する。膜リン脂質の主要成分であるホスファチジルコリンからホスホリパーゼ D (PLD) を介する DG 生成経路も存在する。この DG の標的がプロテインキナーゼ C (Cキナーゼ, PKC) である。TPA (PMA) などの発癌プロモーター作用を示す物質は PKC に直接結合しキナーゼ活性を活性化させる。これを用いて様々な細胞応答系に PKC 経路が関わっていることが明らかとなっている。PKC には cPKC、nPKC、aPKC とよばれる3種の分子群が存在し、この中で TPA、DG によって活性化される PKC は cPKC と nPKC 分子群である。nPKC と aPKC 分子群は PI3-キナーゼを介しても活性化され

る。TPA は種々の遺伝子の転写を活性化するが、それに関わるシス因子、TRE (TPA response element) は癌遺伝子産物 FOS, JUN からなる転写活性化因子、AP1 の標的配列として知られている。NFkB という転写因子も TPA により活性化される。

図解、生物科学講座 (1998), 分子生物学 (村松 正実編著)



プロテインキナーゼを介した細胞内シグナル伝達経路



MAPキナーゼカスケード

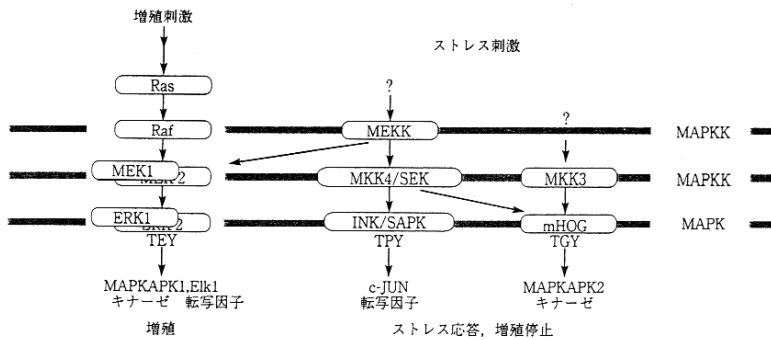
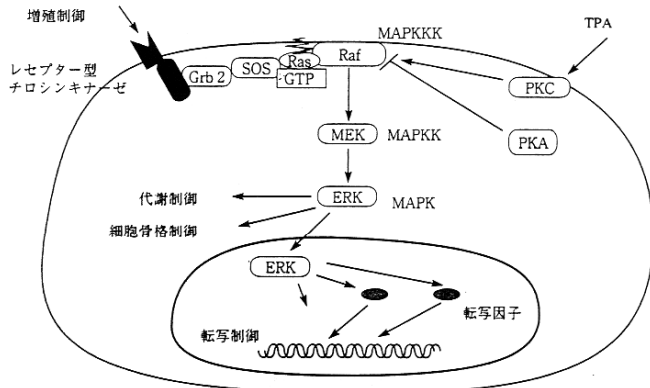
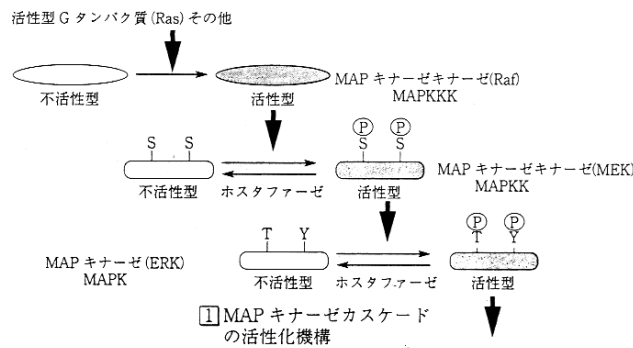
血清などの増殖刺激に伴い一過的に活性化するプロテインキナーゼの一群が生化学的に同定され、近年急速にその普遍性、生理的な意義が明らかにされた。MAPキナーゼ (mitogen activated protein kinase, MAP kinase) は細胞増殖因子の刺激で速やかに活性化されるキナーゼとして同定された。その活性化機構の解析からこれがスレオニンとチロシン残基のリン酸化により活性化することが明らかとなった。次に、不活性型 (脱リン酸化型) の MAPキナーゼを試験管内で活性化するキナーゼ、MAPキナーゼキナーゼ (MAPKK) が単離された。MAPKK は MAPキナーゼのスレオニン、チロシン残基をリン酸化する dual specificity kinase であった。さらに、MAPKKの活性自体も増殖因子の刺激で活性化されること、これがセリンのリン酸化で起こることが見出され、これを活性化する MAPキナーゼキナーゼキナーゼ (MAPKKK) の探索が行われた。この結果、癌遺伝子として同定されていたセリン/スレオニンキナーゼ、Raf が MAPKKK をリン酸化し、活性化することが見出された。癌遺伝子産物である Mos も MAPKKK 活性を示す。

癌遺伝子産物であり、低分子量Gタンパク質の Ras は Raf に結合する。この結合は Raf の活性化に必要であるが十分ではない。Ras による Raf の活性化にはこれ以外にいくつかのタンパク質が関与している。レセプター型チロシンキナーゼから、Ras を介して MAPキナーゼに至るこの一連のシグナル経路は増殖シグナル経路の主経路と考えられる。MAPキナーゼはチロシンキナーゼを介するシグナル経路を初めとして、3量体型Gタンパク質を介した経路など、様々な細胞外刺激に際して作動している。PKC を活性化する TPA も MAPキナーゼを活性化する。

MAPキナーゼは核に移行して種々の転写因子を直接リン酸化すると同時に、種々の代謝酵素、細胞骨格の制御タンパク質などをリン酸化し、様々な細胞機能を制御する。

MAPキナーゼ、MAPKK、MAPKKK と同様のキナーゼは単細胞生物である酵母にも存在し、同様のキナーゼカスケード (MAPキナーゼカスケード) を形成している。また、ショウジョウバエの発生過程の変異体の原因遺伝子がレセプター型チロシンキナーゼ、Ras、Raf、MAPKK、MAPキナーゼ、それによりリン酸化される転写因子などの一連の分子群をコードしている。この一連の経路が発生、分化の過程で必須であることを示している。

酵母には少なくとも4種のそれぞれ独立に作動する MAPキナーゼカスケードが存在する。それぞれの経路は独立に作動し、それぞれ全く異なった機能になっている。最近、動物細胞においても、ストレス刺激で作動する別種の MAP



キナーゼ (stress activated protein kinase, SAPK) とその活性化に至るプロテインキナーゼ経路が見出され、異なった機能に関わる多数の MAP キナーゼカスケードが存在することが確認された。

図解, 生物科学講座 (1998)、分子生物学 (村松 正実編著)

レセプター型チロシンキナーゼ

動物培養細胞の増殖や分化を指標として、種々の増殖因子、分化因子が同定精製されている。これらの多くは細胞外に分泌されるタンパク質性の因子である。上皮成長因子 (EGF)、神経成長因子 (NGF)、血小板由来増殖因子 (PDGF) などである。名前は同定の経緯を表すが、その生理作用を現すものではない。例えば EGF、PDGF は多くの細胞の細胞分裂を誘導するが、NGF はニューロンのニューライトの伸長を助け、増殖促進作用はない。

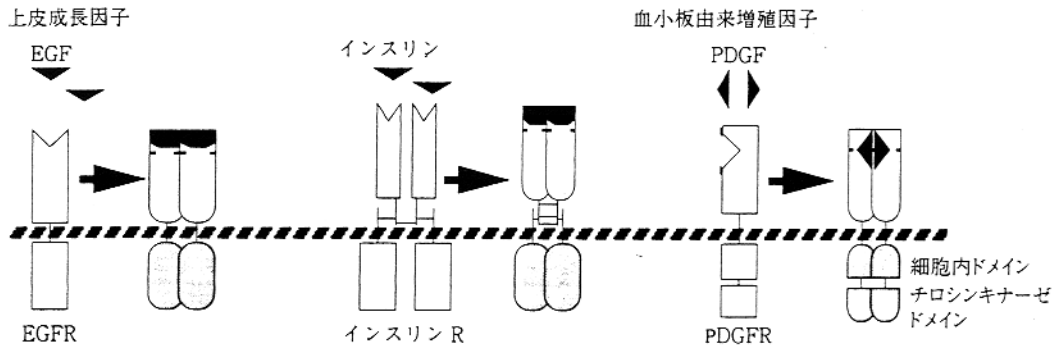
EGF 受容体の構造解析を契機として、多くの増殖因子、分化因子の受容体がチロシンキナーゼをコードしていることがわかった。また、癌遺伝子の中に増殖因子、あるいはその受容体（レセプター）をコードするものがみつかった。

細胞増殖因子（レセプターに対しリガンドとよぶ）のレセプターへの結合は、多くの場合受容体の2量体化を引き起こす。これにつづいて受容体の細胞内ドメインに存在するチロシンキナーゼの活性化が起こり、受容体自身の複数のチロシン残基のリン酸化が起こる（受容体の自己リン酸化）。これが引金となって、種々の細胞内変化が誘導される。まず、種々の細胞内タンパク質がリン酸化チロシン残基をめぐって結合する。このようなタンパク質の中には、低分子量Gタンパク質（ras）の活性制御タンパク質群、膜リン脂質の微量成分 PIP₂ を分解し IP₃ とジアシルグリセロールという細胞内2次メッセンジャー分子を生成するホスホリパーゼC、PIP₃ を生成する PI3 キナーゼ、チロシン特異的ホスファターゼ、Src とよばれる細胞質型チロシンキナーゼなどが存在する。受容体の活性化はこれらのタンパク質群の活性化をもたらす。それぞれのシグナル伝達タンパク質の意義は必ずしも解明されているわけではないが、Ras→Raf（セリンスレオニンキナーゼ）→MAP キナーゼを介する経路の重要性は疑う余地がない。異なった受容体はその活性化に伴い上述のシグナル伝達タンパク質を異なった程度で結合し、これが受容体の作用の違いを説明する。癌遺伝子として同定された受容体型チロシンキナーゼは変異により刺激非依存的に活性化型になったものであることが示されている。

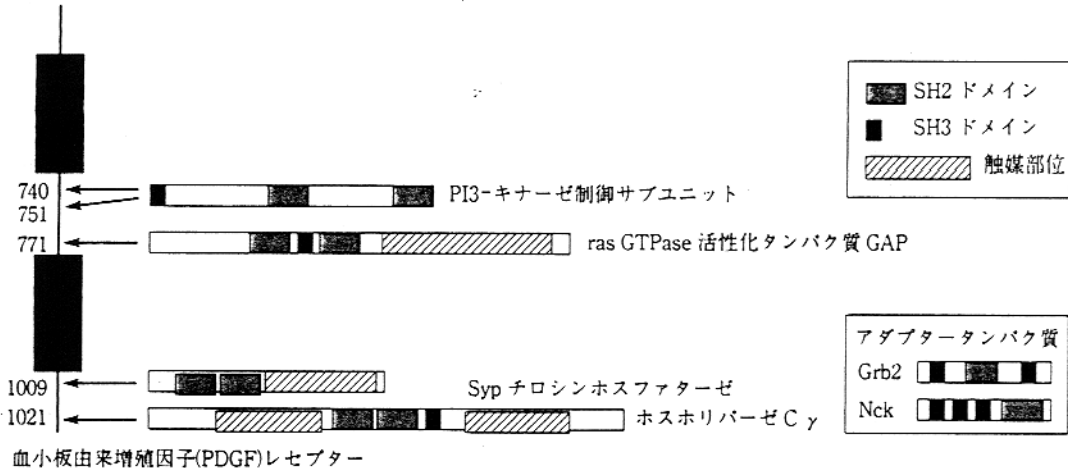
チロシンリン酸化を引金とするタンパク質複合体形成反応は受容体型チロシンキナーゼに限らず、チロシンキナーゼの関与するシグナル伝達機構の大きな特徴である。この機構はきわめて単純である。リン酸化チロシン酸基を認識するタンパク質は SH2 ドメインとよばれる特有のドメインを分子中にもち、これがリン酸化されたチロシン残基を周囲の数個のアミノ残基を含めて確認し、強固に結合する。SH2 ドメインの構造はタンパク質により少しずつことなり、それに応じて異なった場所のリン酸化チロシンを確認する。SH2 ドメインをもつタンパク質の多くは同時に SH3 ドメインとよばれる特異的な構造をもつ。SH3 ドメインはプロリンに富んだ特有のアミノ酸配列の結合する。SH2、SH3 ドメインのみをもつタンパク質はアダプタータンパク質とよばれ、種々の組合せのシグナル伝達タンパク質を活性化受容体などのチロシンリン酸化部位に集結させる役割を果す。

図解、生物科学講座（1998）、分子生物学（村松 正実編著）

リガンドの結合はレセプターの 2 量体化を引き起こし、チロシンキナーゼを活性化する。チロシンキナーゼの活性化は自己リン酸を引き起こし、リン酸化チロシンに種々のシグナルタンパク質が結合、活性化される。



① レセプター型チロシンキナーゼの活性化機構



② レセプターの細胞内ドメインの自己リン酸部位へのシグナル分子の結合とシグナル経路の活性化

細胞質型チロシンキナーゼ

チロシン残基に特異的なチロシンキナーゼは多細胞生物に特有である。細胞膜レセプター中のレセプター型チロシンキナーゼと、細胞質に存在する細胞質型チロシンキナーゼとに分類される。細胞質型チロシンキナーゼもまた、いくつかのサブファミリーに分類される。src は最初に見出された細胞性癌遺伝子産物であるとともに、最初に見出されたチロシンキナーゼでもある。

細胞間のシグナル伝達は多細胞生物の発生、分化、組織維持などの根幹である。これをになう細胞外シグナル伝達物質 (増殖因子など) の細胞膜レセプターの一群はチロシンキナーゼをコードしている。一方、血球系の増殖因子ともいえるサイトカイン (インターロイキン、インターフェロン、コロニー増殖因

子など) のレセプターの多くやT細胞・B細胞の抗原レセプターは自身の触媒活性をもたない。しかし、リガンド結合によるレセプターの活性化は種々の細胞内タンパク質のチロシンリン酸化を引き起こす。これに関わっているのが細胞質型チロシンキナーゼの一群である。液性の細胞外シグナル伝達因子に加え、細胞接着分子などを介した細胞間相互作用も重要であるが、細胞質型チロシンキナーゼはここにも関与している。

チロシンリン酸化を介したシグナル伝達機構の最も基本的な特徴はタンパク質分子間の相互作用の調節にある。レセプターへのリガンドの結合を引金としたシグナルはチロシンキナーゼによる種々のタンパク質のチロシンリン酸化を引き起こす。この中には**レセプター自身**も含まれる。次にこれが引金となり、他のシグナル伝達タンパク質群の結合を誘導する。ここではリン酸化チロシンを認識し強固に結合する特有の **SH2** ドメインが関わる。これ以降の過程はレセプターゼ型チロシンキナーゼの場合と同様である。細胞質型チロシンキナーゼの多くは、自身が **SH2**、**SH3** ドメインをもつ。**SH2**、**SH3** ドメインは元来 **Src** ファミリーに保存された配列として名づけられたものであるが、多くのシグナル伝達分子に同様のモチーフが存在する。**Btk** はこれらに加え、**PH** ドメインとよばれる構造を有し、これもまた種々のシグナルタンパク質との結合に関与している。**PH** ドメインも種々のシグナル分子に存在する。

インターフェロンレセプターの活性化に伴って活性化する **STAT** とよばれる転写因子の一群も **SH2** ドメインを有し、レセプター直下のチロシンキナーゼによりリン酸化され、核に移行し、一群のインターフェロン誘導遺伝子を活性化する。これに関わるキナーゼは **Jak** とよばれる。**Jak**、**STAT** を介したシグナル経路は種々のサイトカインレセプターのシグナル伝達に関わっている。

レトロウイルス **RSV** の **src** 癌遺伝子にコードされた **Src** タンパク質は、変異の結果刺激非依存的な活性型分子となっている。また、**Btk** は抗体産出細胞の分化異常に起因する無ガンマグロブリン症の原因遺伝子である。

図解、生物科学講座 (1998)、分子生物学 (村松 正実編著)

