

平成23年3月31日
筑波大学

アポトーシス（細胞死）を促進する鍵として働く普遍性の証拠を発見

発表者 筑波大学 生命領域学際研究センター 教授 深水 昭吉
筑波大学 大学院生命環境科学研究科 博士3年 坂巻 純一

◇ポイント

- アルギニンメチル化修飾が細胞死を促進する暗号として働く普遍性の証拠を提示
- 暗号が導入されていたのは細胞死プログラム発動の鍵を握る遺伝子 BAD
- BAD の暗号を活性化することで細胞死を促進することに成功

筑波大学生命領域学際研究センターの研究チーム(深水 昭吉教授、博士3年生坂巻 純一氏)は、アルギニンメチル化修飾が生存シグナル伝達を阻害する暗号として働く2つ目の証拠を見出しました。暗号が導入されていたのは、細胞死プログラム促進因子 BAD です。BAD の暗号を活性化することで、細胞死を促進させることに成功しました。

細胞の生死は、「生存シグナル伝達」と「細胞死シグナル伝達」のバランスによって巧妙に制御されています。このシグナル伝達経路のバランスが崩壊すると、がん、神経疾患などの疾患を引き起こします。研究チームはこれまでに、アルギニンメチル化暗号が生存シグナルを遮断する機能を持つことを世界に先駆けて発表しています。しかしながら、この暗号が普遍的なものなのかは不明なままでした。

研究チームは、試験管内及び培養細胞株を用いアルギニンメチル化酵素 PRMT1 が BAD のアルギニンをメチル化していること、更にこのメチル化が BAD への生存シグナルのリン酸化という刻印の導入を阻害していることを証明しました。

この結果はアルギニンメチル化暗号が生存シグナルを遮断する2つ目の証拠であり、暗号が細胞の生死を制御する普遍的な機構であることを示しています。これらの研究成果を応用することで、新しい創薬基盤としてつながる可能性が期待されます。

本研究成果は、アメリカ科学アカデミー紀要誌 (Early Edition) 3月28日付に掲載されました。

1. 背景

私たちの生命活動は、細胞内外で起きている数千の化学反応が積み重なった結果であることが分かってきています。その中心的な役割を果たしているのがタンパク質であり、DNA 上に暗号の形で保存された遺伝情報に従いアミノ酸を原料として合成されます。生体内にはタンパク質の原料となるアミノ酸は 20 種類しかありませんが、タンパク質に組み込まれた後一部のアミノ酸側鎖が化学修飾（リン酸化、アセチル化、ユビキチン化、メチル化など）を受けることで機能の多様性が生み出されます。例えば、化学修飾はタンパク質間、タンパク質と DNA 間、タンパク質と RNA 間の分子認識に重要な刻印として働いています。これらの刻印の有無がスイッチとなり、細胞内シグナル伝達として知られる情報伝達の ON/OFF を切り替えています。20 世紀初頭から現在にかけて、遺伝暗号の解読を目的とし多くの生物の DNA 配列の解析が急速に進みました。しかしながら、タンパク質の機能をコントロールする刻印の暗号解読はほとんど進展していません。

タンパク質の刻印は、細胞の生死にも重要な働きをしています。細胞の生死は、「生存シグナル伝達」と「細胞死シグナル伝達」の 2 つバランスにより巧妙に制御されています。このバランスが生存シグナルに偏ると、死ぬべき細胞が生き残ってしまい、がんや自己免疫疾患を引き起こします。逆に、細胞死シグナルに偏ると、過剰な細胞死を原因とする神経疾患などの病気を引き起こします。このバランスを保つ機構として働いているのがリン酸化酵素 Akt によるタンパク質のリン酸化で、細胞死シグナル促進因子をリン酸化し不活化することで生存シグナルを ON にします。この時リン酸化されるアミノ酸は、Akt により特異的に認識される RxRxxS/T (R;アルギニン、S;セリン、T;スレオニン、x;不特定多数のアミノ酸) 配列中にあるセリンやスレオニンです。BAD は Akt によって制御される細胞死促進因子であり、リン酸化が無い状況で BAD は細胞死抑制因子 Bcl-2 に結合しその働きを妨害しています。一方、リン酸化した BAD は 14-3-3 と結合し、その機能が抑制されます。この微妙なバランスをリン酸化という単一のスイッチだけで制御しているとは考えにくく、より細やかな制御機構の存在が予想されていました。研究チームはこれまでに、アルギニンメチル化酵素 PRMT1 が転写因子 FOXO をメチル化し、Akt によるリン酸化を阻害することを発見しており、アルギニンメチル化がリン酸化を阻害する「アルギニンメチル化コード」を世界に先駆けて発表しています。しかしながら、この暗号が普遍的なものなのかは不明なままでした。

2. 研究手法と成果

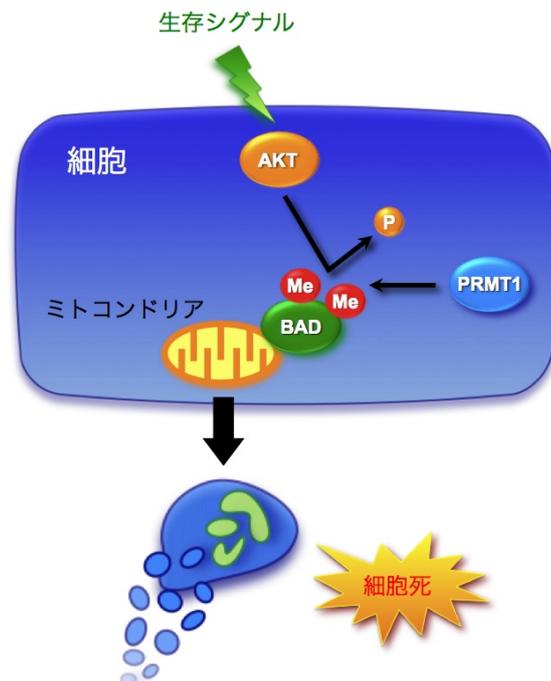
(1) アルギニンメチル化酵素 PRMT1 によりメチル化されるタンパク質の同定

研究チームは、アルギニンメチル化コードの普遍性を検証するために、Akt の基質と PRMT1 を試験管内で反応させてメチル化量を測定しました。その結果、BAD がメチル化されることが分かりました。細胞内で PRMT1 と BAD は結合しており、PRMT1 遺伝子発現量と BAD のメチル化量は相関していました。これらの結果は、BAD が PRMT1 の新規基質であることを示しています。次に、PRMT1 によりメチ

ル化されるアルギニン部位を同定するため、BAD のアルギニンをリジンに変更した変異体を作成し、試験管内及び細胞内においてそのメチル化量を測定しました。その結果、PRMT1 は予想通り Akt によるリン酸化部位（99 番目セリン）近傍の 94 番目及び 96 番目のアルギニンをメチル化していることが分かりました。そこで、研究チームは PRMT1 によるメチル化が Akt によるリン酸化に与える影響を検証しました。その結果、BAD のアルギニンメチル化量とリン酸化が逆相関することが分かりました。これらの結果より、BAD においてもアルギニンメチル化がリン酸化を阻害することが明らかとなりました。

(2) アルギニンメチル化が生存シグナル伝達経路に与える影響の解明

Akt による BAD のリン酸化は、BAD と BCL-XL との複合体形成を阻害し、14-3-3 との結合を誘導します。14-3-3 と結合した BAD の局在は、ミトコンドリアから細胞質へと変化します。その結果、生存シグナルが ON になります。そこで、研究チームは PRMT1 が生存シグナルに与える影響を検討しました。PRMT1 の発現を抑制すると、Akt により BAD がリン酸化されて BCL-XL との複合体形成が減少し、14-3-3 との結合が増加しました。その結果、BAD のミトコンドリア局在が減少しました。さらに、BAD の過剰発現によりカスパーゼ活性化と細胞死が増加し、PRMT1 の発現抑制によってそれらが阻害されました。この現象は、複数の細胞株に共通して認められました。以上の結果より、PRMT1 による BAD のアルギニンメチル化が細胞の生存に非常に重要な役割を果たしていることを示しています。



3. 今後の期待

アルギニンメチル化暗号が生存シグナルを遮断する普遍的な制御機構であることを発見できたことから、今後は、生体内での役割を明らかにすることで、アルギニンメチル化を起点とした細胞死の解明や、創薬のための基本的知見が得られることが期待できます。

4. 掲載論文名

Arginine methylation of BCL-2 antagonist of cell death (BAD) counteracts its phosphorylation and inactivation by Akt.

Jun-ichi Sakamaki, Hiroaki Daitoku, Katsuya Ueno, Ayano Hagiwara, Kazuyuki Yamagata, and Akiyoshi Fukamizu*

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

<http://www.pnas.org/content/early/2011/03/23/1015328108>

5. 用語解説

(1) アルギニンのメチル化

アミノ酸の一つであるアルギニンに、メチル基が転移される反応。タンパク質の中に存在するアルギニンがメチル化され、アルギニンメチル化酵素 (PRMT) が触媒する。

(2) アポトーシス促進因子・BAD

ミトコンドリアに作用して、細胞死を促進する因子。生存シグナルは BAD の働きを OFF にしているが、アルギニンメチル化は BAD 機能を ON にしてアポトーシスを促進する。

(3) 生存シグナル酵素・Akt

Akt は、細胞の増殖に働く生存シグナル酵素である。Akt は BAD をリン酸化し、BAD の働きを OFF にする。