

Identification of New Angiotensin II Type 1 Receptor Interactions with β -arrestin Biased agonists and Angiotensin Receptor Blockers

イスラム, アハメド, アブドゥ, エルハメド, イブラヒム

<https://hdl.handle.net/2324/1441178>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（4）

氏名	Islam A.A.E-H. Ibrahim
論文名	Identification of New Angiotensin II Type 1 Receptor Interactions with β -arrestin Biased agonists and Angiotensin Receptor Blockers

論文審査の結果の要旨

β アレスチンはGタンパク質共役型受容体(GPCR)の脱感作を調節する分子として同定された。アゴニストの結合したGPCRがGPC-キナーゼによってリン酸化されると、 β アレスチンがリン酸化されたGPCRに結合しGPCRによるGタンパク質の活性化を阻害する。しかしながら、近年 β アレスチンはGPCRのGタンパク質の活性化を阻害するのみでなく、積極的に細胞内にシグナルを生成させていることが明らかにされつつある。 β アレスチンを介した経路はGタンパク質の活性化とは全く独立して生じるのが特徴である。細胞内に応答を引き起こすアゴニストのうち、Gタンパク質あるいは β アレスチンを選択的に活性化するアゴニストは、バイアス型アゴニストと呼ばれている。特に、 β アレスチンを介した経路を選択的に活性化する β アレスチン・バイアス型アゴニストは、副作用の軽減された薬になるのではという期待から現在臨床で注目されている。本研究は、アンジオテンシンIIタイプ1受容体(AT1R)を発現させたNIH-3T3細胞を用い、 β アレスチン・バイアス型アゴニスト([Sar1,Ile4,Ile8] AngII : SII)のエズリン/ラディキシン/モエシン(ERM)のリン酸化をアンジオテンシンII(AngII)の作用と比較して解析した。ERMタンパク質は細胞膜とアクチン骨格とをクロスリンクし、細胞の生存や移動あるいは分化を制御する働きを持っている。AngIIで刺激するとERMタンパク質のリン酸化が上昇した。そこで、Gqタンパク質あるいは β アレスチン1/2の関与を検討した。Gqの活性化は3つの方法により阻害した。Gqのカルボキシル末端部分(Gq-CT)を発現させGqと受容体のカップリングを阻害する方法、活性化型Gq(Q209L)を発現させGqの発現量を減少させる方法、さらにGqのドミナントネガティブ体(DN-Gq)を発現させ、受容体によるGqの活性化を阻害する方法である。AT1RはGq共役型GPCRであり、AngII刺激はGqを介して細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させた。DN-GqおよびGq-CTはAngIIによる Ca^{2+} 濃度上昇を阻害したことから、Gqの活性化が抑制されていることを確認した。AngII刺激によってERMのリン酸化は増加した。しかし、AngIIによるERMのリン酸化はGq-CTおよびDN-Gqの発現により影響を受けなかった。一方、AngIIによるERMのリン酸化は、 β アレスチン1の過剰発現により抑制され、 β アレスチン2の過剰発現により増強された。この結果と一致して、AngIIによるERMのリン酸化は β アレスチン2をノックダウンさせると減少した。したがって、AngIIによるERMのリン酸化は、 β アレスチン2を介した増強とGqを介した抑制の2つの経路で制御されており、 β アレスチン2を介したリン酸化の増強経路の寄与がより強いと結論できる。一方、SIIで刺激するとERMのリン酸化はほとんど変化しなかった。しかしながら、このSII刺激によるERMのリン酸化は、Gq-CT、Gq(Q209L)あるいはDN-GqによってGq経路を阻害すると増強された。また、 β アレスチン2を過剰発現させるとERMのリン酸化が増強された。これらの結果は、SIIによるERMのリン酸化はGqを介した抑制および β アレスチン2を介した促進の2つの経路で制御されており、Gqを介した抑制経路の寄与が強いためにSII刺激のみではERMのリン酸化が変化しなかったと考えられる。

次に、AT1R と Gq あるいは β アレスチン 2 との相互作用を Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET) 法にて検討した。AngII 刺激では、Gq と β アレスチン 2 の相互作用は増強され、 β アレスチオン 2 のコンフォメーション変化も観察された。これに対し、AT1R 拮抗薬（イルベサルタン、バルサルタン、ロサル

タン）では、イルベサルタンのみで Gq と β アレスチン 2 の相互作用の弱いながらの減弱が観察された。しかしながら、アレスチオン 2 のコンフォメーション変化は生じなかった。他の AT1R 拮抗薬ではいずれの変化も観察できなかった。これらの結果は、AT1R 拮抗薬の間で若干の違いがみられるものの、作用に関し拮抗薬間での大きな違いは存在しないだろうと予想させる。

これらの結果は、細胞レベルではあるもののバイアス型アゴニストの解析を詳細に行っており、博士（薬学）の学位に値すると認めることができる。

