

The Study on the Molecular Mechanisms of GPCR Receptor Activation in the Nociceptin-ORL1 Ligand-Receptor System

西村, 裕一

<https://hdl.handle.net/2324/1441032>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（理学）, 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（3）

氏名：西村裕一

論文名：The Study on the Molecular Mechanisms of GPCR Receptor Activation in the Nociceptin-ORL1 Ligand-Receptor System (ノシセプチン ORL1 疼痛受容体の活性化分子機構に関する研究)

論文審査の結果の要旨

細胞膜に存在する G タンパク質共役受容体 (GPCR) は、その構造的な特徴として、細胞膜を 7 回貫通する特有の構造をもち、共通した機能として、情報をリガンドとして受け取ると活性化し、G タンパク質を活性化することでシグナルを細胞内へと伝達する。しかしながら、受容体活性化の本質であるリガンド結合に伴う受容体の構造変化の分子機構はほとんど解明されていない。本研究においては、疼痛受容体 ORL1 の活性化における分子機構を解明すべく、367 の構成アミノ酸すべての残基について調べる網羅的な構造活性相関解析を実施した。

細胞膜受容体のアミノ酸の側鎖を削除してそのアミノ酸の機能的な役割を調べる置換、すなわち、アラニン (Ala) スキャンンを施すと、受容体タンパク質がミスフォールディングによって細胞内に貯留してしまう場合がある。本研究においてはまず、このようなタンパク質のフォールディングや輸送をレスキューする薬理的分子シャペロンとして、ORL1 受容体のアンタゴニストである Trap-101 の同定に成功した。こうして、Ala (30 残基) と Gly (22 残基) を除いた、総計 315 残基について大規模な Ala スキャンンを実施した。それぞれ Ala 変異体を作製し、それらの発現、リガンド結合能、受容体活性化能を評価した。また、必要に応じて、Trap-101 の効果、細胞内での局在を調べた。その結果、受容体発現に重要な 4 残基、ノシセプチンの結合に必須な 9 残基、リガンド結合には関係せず受容体の活性化に必須なアミノ酸 41 残基の同定に成就した。このうち、ノシセプチンの新規な結合サイトとして、Gln104、Asp107、Glu196 を発見した。また、ヘリックス間パッキングに関与する残基の同定に成功した。こうした ORL1 受容体や GPCR の機能一般に関わるアミノ酸残基を網羅的に同定できたことは、本研究最大の成果の一つである。さらに、ノシセプチン結合およびそれに伴う受容体活性化に必須なアミノ酸として Trp113 を、新規なパルミトイル化サイトとして Cys150 と Cys357 を初めて同定した。

ノシセプチン結合から受容体の活性化に至るまでの一連の分子機構を解析するなか、最も重要な残基として Tyr316 を発見した。GPCR 活性化において第 6 膜貫通ドメイン (TM6) が大きく構造変化するが、この Tyr316 は Asp145、Tyr232 と共に TM6 と相互作用し、受容体の不活性化型から活性化型への構造変化に関与することを明らかにした。また、Val276 および Gln277 が協働することも明らかにした。こうして、ノシセプチン結合や、ORL1 受容体の活性化に必須な残基を全て同定することに成就した。これらを有機的に関連・解析し、受容体活性化における一連の分子機構を明らかにすることができた。1 つの GPCR について、ここまで網羅的かつ合目的な研究は事例がなく、パルミトイル化 Cys 残基の発見なども含め、GPCR のシグナル伝達機構解明にきわめて重要な知見をもたらした。

このように疼痛受容体 ORL1 について、リガンド結合に伴う受容体の構造変化のほとんどすべての構造要因を明らかとし、それらの有機的な連関から構造変化の分子機構を明らかとした以上の結果は、G タンパク質共役受容体に共通した一般的な受容体活性化の本質を初めて明らかにする、きわめて重要な発見である。

よって、本研究者は博士 (理学) の学位を受ける資格があるものと認める。