

## アデニル酸シクラーゼ系による細胞内情報伝達機構

### 難波 経 篤

#### はじめに

細胞は細胞膜を介して外部環境と接しており、細胞外からの多くの情報刺激の中から細胞にとって必要な情報だけを受け入れて、さまざまな生理的応答を發揮している。細胞にもたらされる情報はすべて化学物質(アゴニスト)であるが、その主要なものはホルモン、神経伝達物質、オータコイドなどである。ホルモンの一部(甲状腺ホルモンやステロイドホルモン)を例外として、これらのアゴニストが標的細胞内でその作用(情報)を發揮するためには、まず細胞膜表面にある特異的な結合部位である受容体に結合しなければならない。このアゴニストと受容体との結合が細胞への情報伝達の第一歩であり、この結合が細胞膜内部での一連の反応系を引き起こし、細胞内にアゴニストとは異なる情報伝達物質を生成させる。そのため、細胞外の情報伝達物質であるアゴニストをファーストメッセンジャーと呼び、細胞内で作られる情報伝達物質をセカンドメッセンジャーと呼んでいる。細胞にもたらされる情報の受容と、それに伴って生じる細胞内での応答はともに特異的なものであるため、両者の橋渡し役をしている反応系自体には特異性は必ずしも必要ではない。受容体を介しておこなわれる一連の反応系と、その代表的な受容体には次の5種類が知られている。

#### (1) アデニル酸シクラーゼ活性化系

:  $\beta$ -アドレナリン ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ), ドーパミン ( $D_1$ ), セロトニン (5-HT<sub>1</sub>), ヒスタミン ( $H_2$ ), プロスタグランジン ( $PGI_2$ ,  $E_1$ ,  $E_2$ ), 多くのペプチドホルモン, アデノシン ( $A_2$ ), バソプレシン ( $V_2$ )

#### (2) アデニル酸シクラーゼ抑制系

:  $\alpha_2$ -アドレナリン, ムスカリン, ドーパミン ( $D_2$ ), GABA<sub>B</sub>, オピエート, アデノシン ( $A_1$ ), プロスタグランジン ( $PGD_1$ ), トロンピン, ソマトスタチン

#### (3) イノシトールリン脂質代謝回転へのCa<sup>2+</sup>動員系

:  $\alpha_1$ -アドレナリン, ムスカリン, セロトニン (5-HT<sub>2</sub>), ヒスタミン ( $H_1$ ), ソマトスタチン, バソプレシン ( $V_2$ ), トロンピン

#### (4) イオノフォア直結系

: ニコチン, GABA<sub>A</sub>

#### (5) チロシンキナーゼ系

: インスリン, 成長因子

1958年, RallとSutherlandはウサギの肝臓切片にグルカゴンとエピネフリンを添加すると、細胞内にこれらのホルモン作用を仲介する物質としてcyclicAMP (adenosine cyclic 3', 5'-monophosphate) が蓄積することを見出した<sup>1)</sup>。その後の研究によって、彼等はcyclicAMPがさまざまなファーストメッセンジャーに対するセカンドメッセンジャーとして機能していることを明らかにするとともに、このcyclicAMPの合成酵素が細胞膜に極在していることを見出してアデニル酸シクラーゼと名づけ、いわゆるセカンドメッセンジャー学説を提唱した。しかし、受容体刺激の結果生成したcyclicAMPが細胞内でどのような方法でファーストメッセンジャーの持っていた情報を具体的に現わすのかという疑問については、長い間不明のままであった。

cyclicAMPが発見されて10年後の1968年, Krebsら

はヒストンをリン酸化する酵素（プロテインキナーゼ）がcyclicAMPによって特異的に活性化されることを見出し、cyclicAMPはcyclicAMP依存性プロテインキナーゼの特異的活性因子として機能していることを明らかにした。<sup>3)</sup> その後の研究によって、このプロテインキナーゼの基質特異性は比較的弱く、細胞内cyclicAMP含量の増加によって細胞内のさまざまな機能タンパク質がリン酸化され、その生理作用を発現していることが分かった。すなわち、基質タンパク質が酵素の場合はリン酸化によって活性化（または不活性化）されるが、膜のタンパク質の場合には、同じくリン酸化によってその性質に変化が生じて膜のイオン透過性などが変わり、その結果として受容体刺激の効果が現れる。このようにして、ホルモンや神経伝達物質などのアゴニスト（ファーストメッセンジャー）が受容体に結合する→アデニル酸シクラーゼが活性化（または不活性化）する→ATPからcyclicAMP（セカンドメッセンジャー）の生成が増大（または抑制）する→プロテインキナーゼが活性化（または不活性化）するというSutherlandが提唱したセカンドメッセンジャー学説が確立され、この学説は多くのアゴニストの細胞内への情報伝達機構として広く受け入れられるようになった。この情報伝達機構は、先にも記したように多くの受容体が関与しているが、その中心となっているのは細胞膜受容体を含めたアデニル酸シクラーゼ系で行われている。

### 1. アデニル酸シクラーゼ系の構成成分

細胞膜に存在する種々の受容体（R）と実際にATPからcyclicAMPを生成するアデニル酸シクラーゼの触媒単位（C）とはタンパク質化学的に異なる成分であるにもかかわらず、受容体を介するアデニル酸シクラーゼの触媒単位の活性化にはGTPなどのグアニヌクレオチドを必要とするため、アデニル酸シクラーゼは触媒単位と、もう一つの成分で構成されていると考えられていた。<sup>4) 5)</sup> このことを証明したのはPfeufferおよびGilman<sup>7)</sup>の2つのグループで、彼らはそれぞれ異なる方法で、受容体から分離されるアデニル酸シクラーゼが触媒単位と呼ばれる酵素タンパク質成分と、GTP

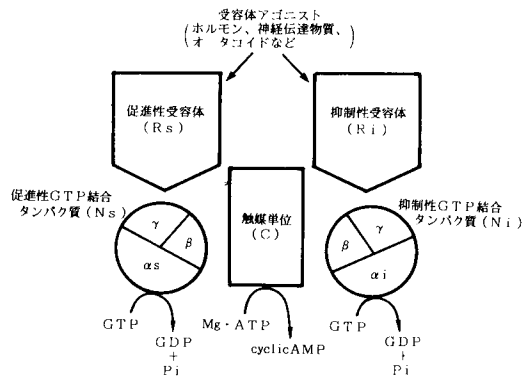


図-1 細胞膜受容体-アデニル酸シクラーゼ系を構成するタンパク質成分

と結合するタンパク質成分（Nタンパク質という）の2つの成分から構成されていることを示した。すなわち、アゴニスト刺激によって細胞膜で行なわれる情報伝達機構のアデニル酸シクラーゼ系は、受容体（R）、Nタンパク質および触媒単位（C）の3種の成分から成り立っている。

図-1に、現在考えられているアデニル酸シクラーゼ系の構成成分を示した。詳細は後述するが、受容体（RsとRiの2種）と触媒単位（C）は単一のタンパク質であるのに対し、Nタンパク質（NsとNiの2種）はいずれも $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の三量体（ヘテロトリマー）構造をしている。この図で、各種ホルモンや神経伝達物質などのリガンドが受容体に結合すると、促進性受容体（Rs）の場合にはNsタンパク質を介して、また抑制性受容体（Ri）の場合にはNiタンパク質を介して触媒単位（C）にその情報が伝えられ、それぞれアデニル酸シクラーゼの活性化、あるいは抑制が引き起こされる。

#### 1) 受容体（R）

細胞の膜表面には数多くの受容体が存在しているが、そのうちアデニル酸シクラーゼ活性を調節するものは、その活性を促進（stimulatory）するか、または抑制（inhibitory）するかによって、便宜的に促進性受容体（Rs）と抑制性受容体（Ri）の2種類に分類されている。

Nタンパク質と関連する受容体の中ではアドレナリン受容体の研究が最も進んでおり、この受容体は、その生理学的ならびに薬理学的な特性によって $\alpha$ と $\beta$ の2つのタイプに分類され、さらにそれぞれは $\alpha_1$ と $\alpha_2$ 、 $\beta_1$ と $\beta_2$ に細分類されている。 $\beta_1$ と $\beta_2$ -アドレナリン受容体は、その刺激が触媒単位を活性化することからNsタンパク質と関連する促進性受容体(Rs)として、他方、 $\alpha_2$ -アドレナリン受容体は、その刺激が触媒単位を抑制することからNiタンパク質に関連する抑制性受容体(Ri)の代表として取り扱われている。 $\alpha_1$ -アドレナリン受容体はアデニル酸シクラーゼ系には関与していない。これらの受容体のうち、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ -アドレナリンおよび $\alpha_2$ -アドレナリンの各受容体はいずれも精製され、単一タンパク質であることが明らかにされている。

一般に、アゴニストの細胞膜受容体への結合活性は、アイソトープ標識されたアゴニストの受容体への結合、あるいは標識アンタゴニスト(受容体とは結合するが、生理作用を発現しない物質)の結合阻害の関係から測定されている。このような結合実験から得られたNタンパク質に関連している受容体の特徴は、アゴニストに対する受容体の親和性がGTPなどのグアニンヌクレオチドの添加によって低下することである。すなわち、受容体はNタンパク質との連関によってアゴニストに対する親和性が高まり、より積極的にアゴニストと結合できる状態になる。ところが、GTPなどが存在すると、受容体-Nタンパク質複合体に何らかの変化が起こり、受容体からNタンパク質が離れ、受容体のアゴニストに対する親和性は再び元の低い親和状態に戻ってしまう。このようなGTPによる受容体-Nタンパク質複合体の性質の変化は、後で述べるNタンパク質のサブユニットへの解離なども密接に関係しているようである。

## 2) GTP結合調節タンパク質(Nタンパク質)

アゴニストによる受容体刺激が必ずしも細胞内のcyclicAMP量を増大させるとは限らず、逆に減少させる場合もある。これは、Nタンパク質に性質の異なる2種類があるためで、そのため、cyclicAMP生成の促

進と抑制に関与するNタンパク質は区別され、促進性Nタンパク質(Nsタンパク質)と抑制性Nタンパク質(Niタンパク質)と呼ばれている。<sup>8)</sup>なお、Nタンパク質は正確には「アデニル酸シクラーゼのグアニンヌクレオチド結合性調節成分(the guanine nucleotide binding regulatory component of adenylate cyclase)」といい、長いので略語としてnucleotideのNをとってNタンパク質と呼ばれている(人によってはguanineのGをとってGタンパク質といっている)。

Nタンパク質は上記2種類のほかにNo(o;others)およびNt(t;transduction)の合計4種類がこれまでに見つかっており、それぞれ精製が進み、その一次構造も解析されている。さらに、最近ではNk(k;Ca<sup>2+</sup>チャンネル)、Np(p;フォスフォリパーゼC)、あるいは遺伝子上NxといったNタンパク質の名称が使われているタンパク質の存在が示唆されているが、上記4種類のNタンパク質とはそのタンパク質の性状も異なり、不明な点も多く、今後の研究が待たれている。

促進性N(Ns)タンパク質はGilmanらによってウサギの肝臓より初めて均一に精製されたが、<sup>9)</sup>その後七面鳥やヒトの赤血球膜からも精製されている。いずれも、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)上、分子量45K( $\alpha_s$ )と35K( $\beta$ )および~10K( $\gamma$ )の3本のタンパク質バンドに分かれることから、Nsタンパク質は3つの異なるサブユニットから構成されているヘテロトリマー(三量体)である。また、Nsタンパク質のGTPとの結合部位は、Nsタンパク質をGTP類似体(8-azide guanosine-5'-triphosphate)で光アフィニティ標識してからSDS-PAGEで解析するという方法で調べられ、その結果、GTPの結合部位はNsタンパク質の $\alpha_s$ サブユニット上にあることが分かった。<sup>10)</sup>

精製されたNsタンパク質をゲル濾過法とショ糖密度勾配遠心法によって調べると、定常状態にあるNsタンパク質の分子量は80~100Kを示し、これは $\alpha_s$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ それぞれのサブユニットの分子量を加えた値にほぼ一致するが、GTP誘導体によって活性化状態にあるNsタンパク質の分子サイズは~50Kに低下してし

まう。これは、Nsタンパク質を活性化するリガンド (GTPなど) がNsタンパク質の $\alpha$ sサブユニットに結合すると、Nsタンパク質のヘテロトリマー構成に変化を生じ、 $\alpha$ sサブユニット $\beta$  $\gamma$ サブユニット複合体が容易に解離する性質を持っていることを示している。

抑制性受容体 (Ri) 刺激を介するアデニル酸シクラーゼ活性の抑制は、Nsタンパク質とは異なるGTP結合タンパク質によって行なわれており、このタンパク質 (Niタンパク質) もGilmanらのグループによりウサギの肝臓細胞膜から初めて均一に精製された。<sup>11)</sup>その後、Niタンパク質はヒトの赤血球やウシとラットの脳細胞膜よりNsタンパク質と類似の方法で精製されており、いずれもSDS-PAGEで41K ( $\alpha$ i)と35K ( $\beta$ ) および $\sim$ 10K ( $\gamma$ ) の3本のタンパク質バンドに分かれる。したがって、Niタンパク質は、Nsタンパク質と同様に、互いに異なる三つのサブユニット構造をしているヘテロトリマー ( $\alpha$ i $\beta$  $\gamma$ ) である。すなわち、Niタンパク質とNsタンパク質とは $\alpha$ サブユニットは異なるが、 $\beta$  $\gamma$ サブユニットはまったく同じものである。

分子構造的にもNiタンパク質とNsタンパク質とはよく似ているが、その他にも両種タンパク質のタンパク質化学的な特性は極めて類似している。<sup>11)</sup>例えば、Niタンパク質のGTP結合部位もNsタンパク質と同様に $\alpha$ iサブユニットに存在しており、また、Nsタンパク質の活性化リガンドであるGTPは $Mg^{2+}$ の存在下で、Niタンパク質のヘテロトリマーを、Nsタンパク質と同様に、 $\alpha$ iサブユニットと $\beta$  $\gamma$ サブユニット複合体に解離する。

### 3) アデニル酸シクラーゼの触媒単位 (C)

アデニル酸シクラーゼの触媒単位はNタンパク質 (実際は $\alpha$ sおよび $\alpha$ iサブユニット) と連関して、細胞質内でATPからcyclicAMPの生成を触媒している酵素タンパク質である。触媒単位の精製は受容体やNタンパク質の精製に比べて遅れているが、その大きな理由は、触媒単位が熱や可溶化剤に対して不安定であり、また触媒単位の精製に適したアフィニティ支持体の開発が遅れているためである。

Pfeufferらは、*Coleus forskohli*の根茎から血圧降下作用のある物質として発見されたフォルスコリンが種々の細胞でcyclicAMPの生成を促進することに着目し、アフィニティクロマトグラフィーによって触媒単位を精製した。<sup>12)</sup>フォルスコリンは、アデニル酸シクラーゼは存在するが機能的なNsタンパク質が欠損しているS49リンパ腫細胞や、ラット精巣から可溶化されたアデニル酸シクラーゼ活性を上昇させるので、直接触媒単位に作用すると考えられている物質である。彼らの得た標品はGTP誘導体 (GppNHp) や $F^-$ では活性化されず、GppNHp処理をしたNsタンパク質を添加することによって初めて活性化されるので、少なくとも機能的に活性なNsタンパク質からは遊離されると見做されるものであった。ところが、この触媒単位標品はSDS-PAGE上で分子量150Kと42Kのほぼ等モルの2本のバンドに分かれるため、色々と調べた結果、前者が触媒単位であり、後者はその分子量などからNs $\alpha$ であることが分かった。一方、Smigelはレクチンアフィニティクロマトグラフィーを繰り返して、ウシの脳から分子量約150Kの純度の高い標品を得たが、<sup>13)</sup>この標品にも約5%のNsタンパク質の混在が確認されている。このように、触媒単位とNsタンパク質との親和性は高く、完全にNsタンパク質の混在していない触媒単位標品を得ることは未だ成功していない。Nsタンパク質の $\alpha$ サブユニットは触媒単位と固く結合しているようである。

昨年、Gilmanらは触媒単位の遺伝子クローニングに成功したと報告しており、<sup>14)</sup>純品の触媒単位標品の得られるのも間近いと思われる。

## 2. アデニル酸シクラーゼの活性化機構

すでに述べたように、ホルモンや神経伝達物質、オータコイドといったアゴニストによるアデニル酸シクラーゼ活性の促進系は受容体 (Rs)、Nsタンパク質、触媒単位 (C) の3種の構成成分から成り立っており、これらの構成タンパク質の相互的作用によって活性化される。図-2は現在までに明らかにされているアデニル酸シクラーゼの活性化機構で、これをまとめると次

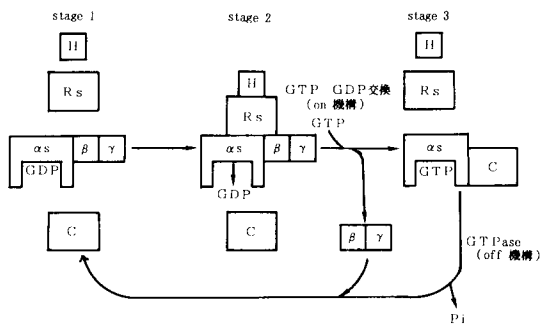


図-2 アデニル酸シクラーゼの活性化機構  
 H:ホルモンなどの受容体アゴニスト Rs:促進性受容体  
 $\alpha_s, \beta, \gamma$ :Nタンパク質のサブユニット C:あでる酸シクラーゼの触媒単位

のようになる。

- (1) 受容体 (R) がNsタンパク質と結合すると、アゴニストと受容体の結合親和性を増加させる。  
(図-2, stage 1)

- (2) ホルモン (H) などのアゴニストが受容体と結合する。

- (3) Nsタンパク質の $\alpha$ サブユニット( $\alpha_s$ )上のGDPがGTPに変換され (on機構), Nsタンパク質がGTP結合型 $\alpha_s$ サブユニットと $\beta\gamma$ 複合体に解離する。(図-2, stage 2)

- (4) GTP結合型 $\alpha_s$ サブユニットがアデニル酸シクラーゼの触媒単位 (C) のある部位に結合して、アデニル酸シクラーゼ活性を上昇させる。

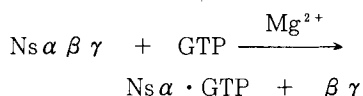
- (5) GTP結合型 $\alpha_s$ サブユニット上のGTPが加水分解されてGDPになると (off機構),  $\alpha_s$ サブユニットは $\beta\gamma$ 複合体と再びヘテロトリマーを形成する。  
(図-2, stage 3)

アデニル酸シクラーゼの活性化機構を考える場合、2つの重要な過程がある。1つはアゴニスト・受容体・Nsタンパク質の関連過程であり、いま1つはNsタンパク質と触媒単位の活性化過程である。

第1のアゴニスト・受容体・Nsタンパク質の関連過程は、ホルモンなどのようなアゴニスト (H) が促進性受容体 (Rs) に結合すると、RsはNsタンパク質とも会合し、いわゆるH・Rs・Nsの“ternary complex”といわれるものを形成する。この“ternary complex”の形成というのは $\beta$ -アドレナリン受容体を用いた受

容体の結合実験の結果から導きだされたものである。実験系にGTPが存在しない場合、カエル赤血球膜の $\beta$ -受容体は $\beta$ -アゴニストであるインプロテレンールの結合に対して濃度に依存して見かけ上異なる高親和性と低親和性の2種の親和性を示す。ところが、GTPまたはその誘導体が実験系に存在する場合は、どのような濃度でも高親和性の結合は起こらず、1種類の親和性しか認められず、GTPはアゴニストと受容体との結合親和性に大きな影響を及ぼしている。このような現象は、細胞膜上に存在している受容体はNsタンパク質と関連してRs-Ns複合体を形成している場合にはアゴニストに対して高い親和性を示すが、GTP (またはその誘導体) が存在すると何らかの細胞膜因子との相互作用によってRs-Ns複合体にある種の変化が生じ、受容体からNsタンパク質が解離し、受容体のアゴニストに対する親和性が低下するためだと考えられている。このRs-Nsタンパク質複合体の形成とGTPの効果 (ternary complex形成) に関する直接的な証拠も次のような実験によって示されている。<sup>16)</sup> ラットの赤血球膜を標識した $\beta$ -アゴニストと結合させた後、細胞膜を可溶化してゲル濾過を行うと、 $\beta$ -受容体分子よりもさらに大きな分子サイズのものが標識検出される (H・Rs・Nsのternary complexの形成) が、同様の実験をGTP誘導体が共存している条件の下で行うと、このような大きなサイズの標識分子は検出できない (ternary complexの解離)。すなわち、受容体はアゴニストと結合している時のみNsタンパク質と会合していることになる。

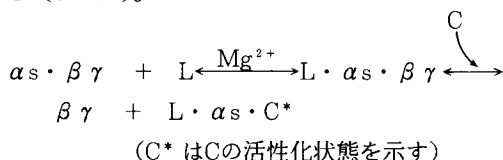
第2のNsタンパク質と触媒単位の活性化の過程であるが、これまで述べたようにternary complexの形成と解離にはGTP (またはその誘導体) が関与しているが、通常Nsタンパク質にはGDPが結合している。ところが、GTPが存在すると“GTP-GDP交換”という現象が起こり、その結果Nsタンパク質に分子構造上の変化が生じ、 $Mg^{2+}$ の存在下で、Nsタンパク質の $\alpha$ サブユニットにGTPが結合し、 $\beta\gamma$ 複合体と解離してしまう。



このGTPの結合した $\alpha$ サブユニットは $Mg^{2+}$ が存在する限り安定であり、 $\beta\gamma$ 複合体から分離精製することも可能である。他方、 $N_s$ タンパク質から解離した $\beta\gamma$ 複合体はアデニル酸シクラーゼに対しては何ら作用を示さず、また活性化能も持っていない。したがって、 $N_s$ タンパク質の活性化とは $\beta\gamma$ 複合体の解離による活性コンポーネント $\alpha$ サブユニットの遊離であるといえよう。

他方、活性型 $N_s$ タンパク質分子上のGTPがGTPase作用を受けてGDPになると、 $\alpha$ サブユニットは $\beta\gamma$ 複合体と会合し、再び $N_s$ タンパク質は不活性型になる。

これまでに記したアデニル酸シクラーゼの活性化機構をまとめると次のようになる。①活性化リガンドL (GTP, またはその誘導体)が $N_s$ トリマー( $\alpha_s\beta\gamma$ )と結合すると、② $Mg^{2+}$ の存在下で $\alpha_s$ が $\beta\gamma$ から解離し、③アデニル酸シクラーゼの触媒単位を直接活性化する( $C \rightarrow C^*$ )。



生理的な状態で $\alpha_s \cdot GTP$ が $\beta\gamma$ と解離して $N_s$ タンパク質から遊離することは、受容体の介在がなくても直接触媒単位(C)を活性化できることを意味している。したがって、 $N_s$ タンパク質から解離した促進性受容体 $R_s$ (図-2, stage 3)は再びstage 1の状態に戻り、別の $N_s$ タンパク質を活性化することができる。一方、GTPaseの活性化によるoff反応の分子機構は、 $N_s\alpha \cdot GDP$ の生成と触媒単位の活性化能の喪失、ならびに $\beta\gamma$ サブユニット複合体との再会合によるstage 1への回復過程と考えられる。

以上述べたアデニル酸シクラーゼの活性化機構では、まず $R_s-N_s$ 連関によって触媒単位が活性化され、続いて $N_s-C$ 連関によって触媒単位が活性化される。このようにアデニル酸シクラーゼの活性化は $N_s$ タンパク質が促進性受容体( $R_s$ )と触媒単位の間を行き来することによって行われているところから“ $N_s$  shuttle

model”と呼ばれている。これに対して、アデニル酸シクラーゼ活性化の速度論的解析から、 $H \cdot R_s$ 複合体は $N_s \cdot C$ 複合体を直接活性化するという“collision coupling model”と呼ばれているモデルもある。しかし、このモデルのように $N_s$ タンパク質が触媒単位と複合体を形成していると仮定する場合でも、 $\alpha_s$ サブユニットと $\beta\gamma$ 複合体との解離・会合が $N_s$ タンパク質の活性化の調節に重要な役割を行っていることには変わりはない。

### 3. アデニル酸シクラーゼの抑制機構

アデニル酸シクラーゼ活性の抑制機構は、 $N_s$ タンパク質を介する活性化の場合と異なりかなり複雑である。現在までに報告されているアデニル酸シクラーゼの抑制機構には4通りの方法があり、それらを模式化したのが図-3である。

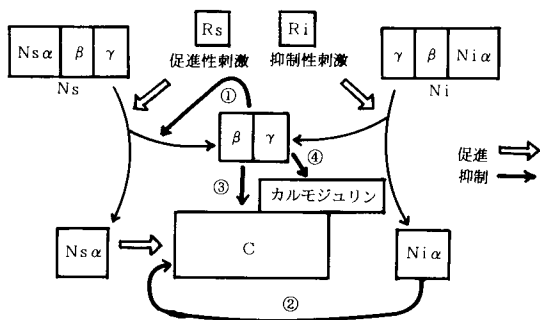
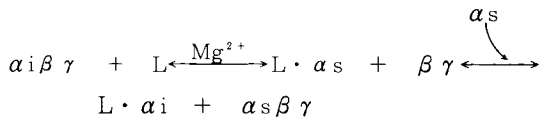


図-3 アデニル酸シクラーゼの抑制機構  
 $R_s$ :促進性受容体  $R_i$ :抑制性受容体  $N_s$ :促進性 $N_s$ タンパク質  
 $N_i$ :抑制性 $N_s$ タンパク質  $\alpha, \beta, \gamma$ : $N_s$ タンパク質のサブユニット  
 $C$ :アデニル酸シクラーゼの触媒単位

すでに述べたように、 $N_i$ タンパク質は $N_s$ タンパク質とそのタンパク質化学的な特性が極めて類似しており、GTP結合部は $\alpha$ サブユニットに存在し、また $Mg^{2+}$ の存在下でこのタンパク質は $\alpha$ サブユニットと $\beta\gamma$ サブユニット複合体に解離するが、この $\beta\gamma$ 複合体は $N_s$ タンパク質のそれとタンパク質化学的にも、また機能的にも同じである<sup>11)</sup>。精製した $N_i$ タンパク質を用いた実験では、 $N_i$ タンパク質より解離した $\beta\gamma$ 複合体は $N_s$ タンパク質の $\alpha_s$ サブユニットとも再会合し、 $N_s$ トリ

マーを形成することが示されている<sup>17)</sup>。したがって、Niタンパク質によるアデニル酸シクラーゼの抑制は、リガンド(L)によって活性化されたNiタンパク質の $\alpha_i$ サブユニットが $\beta\gamma$ サブユニット複合体と解離し、解離した $\beta\gamma$ 複合体はNsタンパク質の $\alpha_s$ サブユニットと会合するため、結果として触媒単位を活性化する $\alpha_s$ サブユニットを減少させることによって行われている。



この抑制機構は図-3の①の経路であり、最も一般的に受け入れられているアデニル酸シクラーゼの抑制機構である。この経路が一般に受け入れられている背景には、多くの細胞ではNiタンパク質はNsタンパク質の数倍から十数倍(肝臓の細胞膜では、Nsで0.5~2pmol, Niで2~10pmol/mgタンパク質と推定)もあり、抑制性アゴニストが抑制性受容体(Ri)を刺激すると膨大な量の $\beta\gamma$ サブユニット複合体の解離が行われる。その結果、 $Ns \leftrightarrow Ns\alpha + \beta\gamma$ の平衡が左にずれ、触媒単位の活性コンポーネントである $Ns\alpha \cdot GTP$ 量を減少させることができると説明し得るためである。

図-3の①の抑制機構では、アデニル酸シクラーゼを抑制するためにはNsタンパク質が不可欠な要素になる。ところがこの抑制機構では、Nsタンパク質を欠損しているS49リンパ腫細胞でも抑制性アゴニストによってアデニル酸シクラーゼ活性の抑制がみられることを説明することができない。Katadaらはこの点に関して詳細に検討した結果、 $Ni\alpha \cdot GTP$ による抑制は $Ns\alpha \cdot GTP$ との競合阻害に基づくことを明らかにした(図-3, ②)<sup>18)</sup>。すなわち、 $Ni\alpha \cdot GTP$ による抑制にもNsタンパク質の存在が必要であるというのである。

さらにアデニル酸シクラーゼの抑制機構には、 $\beta\gamma$ 複合体が直接触媒単位に作用して抑制する経路(図-3, ③)や、 $Ca^{2+}$ によって活性化される調節タンパク質の一種であるカルモジュリンとの相互作用を介して抑制する経路(図-3, ④)などの存在も見い出さ

れている。図-3の④の経路は、 $\beta\gamma$ 複合体はカルモジュリンとの親和性が高いため、一部の組織では $\beta\gamma$ 複合体が $Ca^{2+}$ の存在下にカルモジュリンと相互作用してカルモジュリン活性を抑制し、そのためにカルモジュリン感受性のアデニル酸シクラーゼ活性を抑制するというものである。しかし、 $\beta\gamma$ 複合体が触媒単位を直接抑制するという経路(図-3の③)については問題点も残されている。なぜなら、前述したように、触媒単位を精製しても完全にNsタンパク質を除去するのは未だ困難であり、そのため精製した触媒単位標品にNsタンパク質が混在している可能性を否定しきれないからである。

#### おわりに

生体の中で演じられているどのような機能発現であっても、一つの方法で行われていることは極めて希で、多くの場合そのポジティブあるいはネガティブ・フィードバック機構をはじめ複数の機構が関与して行われている。アデニル酸シクラーゼの活性調節機構についても同様である。これまでの研究によって、細胞膜の脂質二重層内で行われる細胞膜受容体からアデニル酸シクラーゼへの情報伝達は、多くの受容体刺激がそれぞれの受容体(RsとRi)を介して2種類の異なったN(NsとNi)タンパク質を構成しているヘテロトリマーを活性化( $\alpha$ と $\beta\gamma$ のサブユニットに解離)することによって発現されていることが明らかにされている。2種類のNタンパク質はそれぞれが別個に作用しているのではなく、相互に作用しあいながらアデニル酸シクラーゼの活性調節を行っている。すなわち、Nタンパク質はアゴニストに対する受容体の親和性を調節する一方で、Nタンパク質それぞれ自身が受容体刺激によってGTPと結合し、活性型のGTP- $\alpha$ 複合体を生成して触媒単位にその情報を伝達し、触媒単位の活性を調節し、最終的にATPから生成されるcyclicAMP量の調節を行っている。このように、アデニル酸シクラーゼ系による情報伝達機構にはNタンパク質がその主役を演じているのである。Nタンパク質はすでに述べたように4種類(Ns, Ni, No, Nt)の存在が知られて

いるが、このタンパク質に類似したGTP結合タンパク質が他の情報伝達系にも重要な役割を果たしていることが近年明らかにされつつある。

1つは眼の網膜の光受容に参与するGTP結合タンパク質である。網膜の杆体細胞外節では、ロドプシンの光受容によってcyclicGMPフォスホジエステラーゼ(cyclicGMPの分解酵素)が活性化され、外節内cyclicGMP量の急激な減少が起り、形質膜のNa<sup>+</sup>チャンネルを抑制することによって膜を過分極状態にし、光受容体刺激を電気シグナルに変換している。このフォスホジエステラーゼの活性化にロドプシンと連関するGTP結合タンパク質(トランスジュシンと命名されている)<sup>20)</sup>が関与している。このGTP結合タンパク質も39K(T $\alpha$ ), 35K(T $\beta$ )および~10K(T $\gamma$ )の三つの異なるサブユニットからなるヘテロトリマーで、ロドプシンが光を吸収するとT $\alpha$ 上に結合していたGDPはGTPと交換され、GTP-T $\alpha$ 複合体がT $\beta$ から解離し、このGTP-T $\alpha$ がcyclicGMPフォスホジエステラーゼを活性化する。他にも、フォスホリパーゼCを介するイノシトールリン脂質代謝の活性化や、細胞膜にあるK<sup>+</sup>やCa<sup>2+</sup>チャンネルの開口にもNタンパク質が関与していることが確実視されている。さらに興味深いのは、細胞のガン化のメカニズムにもGTP結合タンパク質の関与が示唆されていることである。

細胞膜の脂質二重層内で行われている受容体とアデニル酸シクラーゼ系の調節機構は、この連関系を構成する主要なタンパク質成分が精製され、その機能の大略が明らかになってきた。今後はこれらの構成タンパク質をコードする遺伝子のクローニングも行われ、タンパク質分子のより詳細な構造と機能が解明されることと思われる。

#### 文 献

- 1) Rall, T.W. and Sutherland, E.W., J. Biol. Chem., 232, 1065-1075, 1958.
- 2) Sutherland, E.W., Rall, T.W. and Menon, T., J. Biol. Chem., 237, 1220-1227, 1962.
- 3) Walsh, D.A., Perkins, J.P. and Krebs, E.G., J. Biol.

Chem., 243, 3763-3765, 1968.

- 4) Limbird, L.E. and Lefkowitz, R.J., J. Biol. Chem., 252, 779-802, 1977.
- 5) Haga, T., Haga, K. and Gilman, A.G., J. Biol. Chem., 252, 5776-5782, 1977.
- 6) Pfeuffer, T., J. Biol. Chem., 252, 7224-7234, 1977.
- 7) Ross, E.N. and Gilman, A.G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 3715-3719, 1977.
- 8) Ui, M., Trends Pharmacol. Sci., 5, 277-279, 1984.
- 9) Sternweis, P.C., Northup, J.K., Smigel, M.D. and Gilman, A.G., J. Biol. Chem., 256, 11517-11526, 1981.
- 10) Northup, J.K., Smigel, M.D. and Gilman, A.G., J. Biol. Chem., 257, 11416-11423, 1982.
- 11) Bokoch, G.M., Katada, T., Northup, J.K., Ui, M. and Gilman, A.G., J. Biol. Chem., 259, 3560-3567, 1984.
- 12) Pfeuffer, T. and Metzger, H., FEBS Lett., 146, 369-375, 1982.
- 13) Smigel, M.D., J. Biol. Chem., 261, 1976-1982, 1986.
- 14) Krupinski, J., Coussen, F., Bakalyar, H.A., Tang, W.-J., Feinstein, P.G., Orth, K., Slaughter, C., Reed, R.R. and Gilman, A.G., Science, 244, 1558-1564, 1989.
- 15) Lean, A.D., Stadel, J.M. and Lefkowitz, R.J., J. Biol. Chem., 255, 7108-7117, 1980.
- 16) Limbird, L.E., Gill, D.M. and Lefkowitz, R.J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 775-779, 1980.
- 17) Manning, D.R. and Gilman, A.G., J. Biol. Chem., 258, 7059-7063, 1983.
- 18) Katada, T., Oinuma, M. and Ui, M., J. Biol. Chem., 261, 5215-5221, 1986.
- 19) Katada, T., Kusakabe, K., Oinuma, M. and Ui, M., J. Biol. Chem., 262, 11897-11900, 1987.
- 20) Stryer, L., Ann. Rev. Neurosci., 9, 87-119, 1986.

(1990年12月1日受理)