

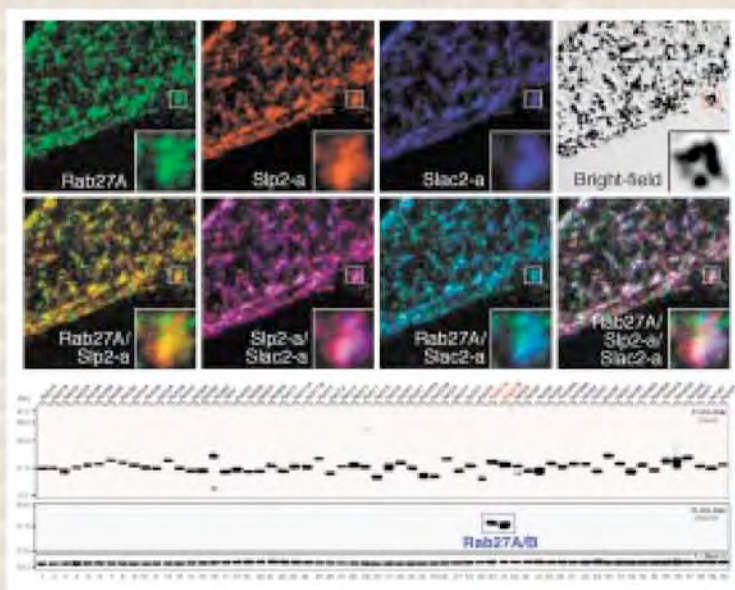


フロンティア研究システム
独立主幹研究プログラム

R I K E N

IRS Initiative
Research
Scientist

NEWS No.2



Rab27エフェクターのメラノサイトにおける発現。Rab27A, Slac2-a, Slp2-aのメラノソームへの局在(上)、Slp2-aのRab結合特異性(下)。

特集【CLOSE UP】

「分泌」という二文字に潜む生命現象を解く

福田独立主幹研究ユニット
ユニットリーダー・独立主幹研究員
福田 光則

新しい独立主幹研究員の紹介

岡本独立主幹研究ユニット
ユニットリーダー・独立主幹研究員
岡本 晃充

宮城島独立主幹研究ユニット
ユニットリーダー・独立主幹研究員
宮城島 進也



独立行政法人 理化学研究所



「分泌」という二文字に潜む 生命現象を解く



福田独立主幹研究ユニット

ユニットリーダー・独立主幹研究員 福田 光則

東北大学の修士課程の時、御子柴克彦大阪大学教授(当時)の集中講義で、細胞質内へのカルシウムイオン(Ca^{2+})放出を制御するイノシトール1,4,5-三リン酸(IP_3)とその受容体発見の話聞いたのが、福田光則独立主幹研究員の節目となった。

IP_3 受容体に魅せられ、東京大学医科学研究所へ移る御子柴教授に合わせ同大博士課程へ進学。そこで、 IP_3 にさらにリン酸基が1つ付いた IP_4 の受容体を見つけようと研究を始めたが、これがまわりまわって Ca^{2+} 結合タンパク質「シナプトタグミン」ファミリーの研究につながった。

このファミリーは神経細胞を始め、さまざまな細胞間のコミュニケーションや外界刺激への対応の手法である「調節性分泌」を司る。ヒト遺伝病Griscelli症候群の病態解明から、肌や髪の毛が黒くなる仕組みにも、シナプトタグミン類似分子のSlac2-aやSlp2-aが関わることを明らかにした福田独立主幹研究員が、5年のユニット研究生活を中心に研究人生を振り返る。

東大医科研の御子柴研究室に入った福田独立主幹研究員は、IP₃受容体のクローニングで注目された御子柴教授に続こうと、当時IPP₃と同様にCa²⁺制御に深く関わるといわれていたIP₄の受容体の同定を試みた。抗体を用いるイムノスクリーニング法で得られた候補分子の遺伝子クローニングを行い、アミノ酸配列を決めていった。そして1年半後の1993年、IP₄受容体と信じていた分子が、受容体ではなくシナプトタグミンだということが明らかになった。

■ よく似たドメインの片方だけを認識する抗体

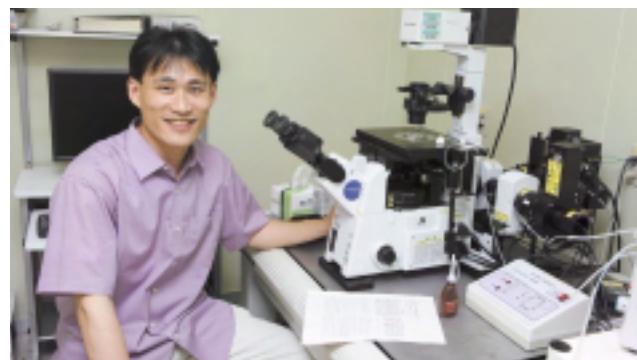
シナプトタグミンは、1990年に神経細胞のシナプス小胞上に存在するタンパク質として同定されていた。カルボキシル末端側にCa²⁺結合モチーフとして知られる2つのC2ドメインが並ぶ構造で、それぞれC2Aドメイン、C2Bドメインとよばれている。このように存在場所構造も明らかになっている上に、すぐ後の1994年にはノックアウトマウスまでつくられた。研究室の先輩にも「これ以上やっても何も生まれないかも知れない」と言われ、博士課程の2年間を無駄にするのかと落ち込んだ。

しかし、細胞内Ca²⁺濃度に依存する神経伝達物質の放出に、C2AとC2Bドメインそれぞれがどう関わっているかが分かれば、IP₄結合の意義につながるのではないかと考え、各ドメインの機能を調べることにした。そのためには、C2A、C2Bそれぞれのドメインの働きを阻害する抗体をつくらねばならない。

「両ドメインは40%以上のアミノ酸配列が同じで、果たして片方だけを認識する抗体を得られるのか？誰も挑戦したことがありませんでした」と福田独立主幹研究員は振り返る。そしてウサギで試みたところ、一方しか認識しない抗体を得ることに成功。

「ウサギ次第で運が良ければ当たるのですが、運命の女神が少し微笑んでくれたようです」。

当時、御子柴研究室の関係者が米国ウッズホール海洋生物学研究所のLlinás博士の研究室に滞在していたこともあり、この抗体をヤリイカの巨大軸索に打とうということになった。



実験室にて

■ C2A、C2Bそれぞれの働きを突き止める

ヤリイカの巨大軸索を使ったウッズホールでの実験結果を紹介する前に、神経伝達物質放出のメカニズムを概観しよう。シナプス小胞はまず細胞膜の近くまで運ばれ、細胞膜に結合（ドッキング）する。次いで、ATP依存的な準備段階（プライミング）を経て、外界からのCa²⁺の刺激により細胞膜と融合し、小胞内の神経伝達物質が放出される（融合）。この時のカルシウムセンサーの役割を、シナプトタグミンが担うと考えられている。その後、放出された神経伝達物質は小胞に回収され、次の神経伝達物質の放出に備える（リサイクリング）。この一連のサイクルは、神経細胞に限らず、どんな細胞の調節性分泌でも必ずたどっている。

さて、ヤリイカの巨大軸索にC2Aドメインの機能を阻害する抗体を打つ実験から、C2Aドメインはシナプス小胞と細胞膜との融合段階に関わっており、この部分が抗体により阻害されると、神経伝達物質の放出が行われないことが分かった。一方、C2Bドメインの機能を阻害する抗体を打つと今度はシナプス小胞のリサイクリングの段階が阻害されることが分かった。

■ Slp ファミリーの発見

こうして研究の中心は、自ずとIP₄からシナプトタグミンの機能解明の方へと移っていった。研究場所も東大医科研（白金台）は1年間だけで、御子柴教授が理研の主任研究員を兼ねると理研筑波センターに研究拠点を移し、さらに、御子柴教授が理研脳科学総合研究センター（BSI）のグループディレクターになると、BSIのある和光研究所へと移っていった。

「御子柴研究室は規模が大きくていくつかのグループに分かれており、そのうちの1つの面倒を任されていました。BSIへの移動時は、実験台から分析機器、配管まで発注して、ラボすべてのインフラを整えました。こうした経験が独立主幹研究ユニットの立ち上げに非常に役立ちました」と福田独立主幹研究員。この間、博士号を取得し、さらにBSIの研究員となった。

さて、シナプトタグミンのファミリーは、哺乳類では15種類報告されており、特に脳内での発現が高い。しかし、調節性分泌は体のどこでも生じている現象なので、類似のものが必要だと考えた福田独立主幹研究員は、シナプトタグミンに類似した新しいファミリーを見つけた。見出したタンパク質は、シナプトタグミンのファミリーとは違い、頭のアミノ末端側に膜貫通領域が無く、代わりに独特のドメインをもつ。このタンパク質を「Slp（シナプトタグミン様タンパク質）」、頭のドメインを「SHD」と名づけた。現在までに、哺乳類には5種類のSlpが報告されている。また、C2ドメインはもたないが、同様にSHDをもつタンパク質群も見出し、「Slac2」と命名した。

■ Slp ファミリーの働き

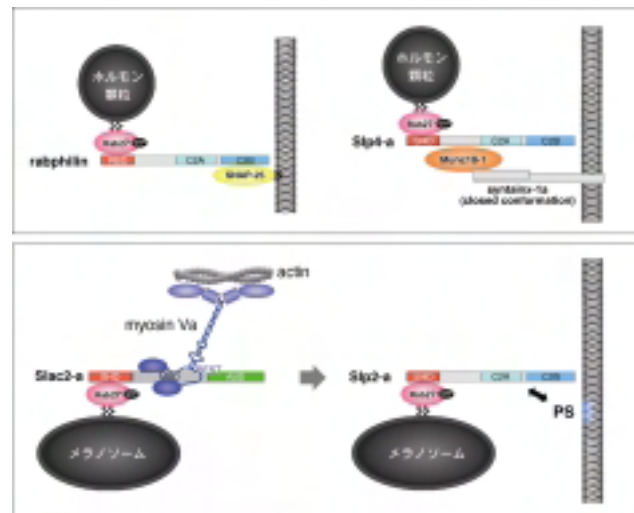
シナプトタグミン類似分子には、Doc2/rabphilinというファミリーもあるのだが、SHDはrabphilinのRab3結合領域と似ており、これに注目した福田独立主幹研究員は、Rab27A/BがSHDに特異的に結合することを突き止めた（表紙下図）。そしてSlpファミリーはRab27のエフェクターではないかと考えた。ヒトでは60種以上のRab分子が存在し、GTPを結合した活性型のRabに特異的なエフェクター分子が結合すると、シナプス小胞などさまざまな膜輸送のさまざまな段階を促進するようになる。

SlpファミリーとRab27の関係が分かる少し前に、フランスの研究グループがRab27Aを欠損するとヒト遺伝病Griscelli症候群が発症することを明らかにしていた。この病気では肌や髪の色素が減少し、免疫不全を生じるが、その発症の分子メカニズムはこの当時全く解明されていなかった。2001年に独立主幹研究員制度へ応募した福田独立主幹研究員は、神経系とは離れたまったく新しい領域でのSlpファミリーの機能解明を目指し、Griscelli症候群発症の分子メカニズムの解明をテーマとして挙げ、受理された。

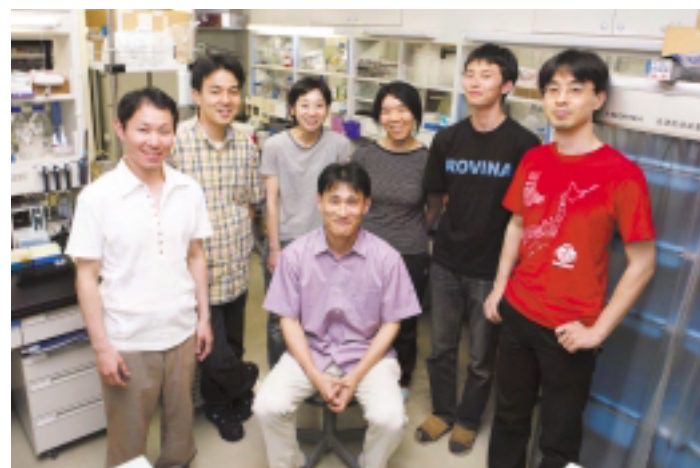
■ メラノソームの輸送メカニズムの解明

総勢5人で始めた福田光則独立主幹研究ユニット。Rab27の最前線の研究を行っていることを世界にアピールするために、福田独立主幹研究員は立ち上げ1年目の2002年には第一著者で9本の論文を含む15本の論文を書いた。若いメンバーには「君たちは5年後に充実した結果を出せばいいと言いつつ、とにかく必死に書きました」。

こうした精力的な研究の中で、メラニン色素の輸送メカニズムが明らかになった。皮膚に紫外線が当たると、表皮基底層にある細胞「メラノサイト」が活性化され、細胞内の特



Rab27A エフェクターを介する膜輸送機構のモデル図。PC12細胞における細胞膜へのホルモン顆粒の輸送機構（上）。メラノサイトにおけるメラノソーム輸送機構（下）。



研究ユニットのメンバー

殊な袋「メラノソーム」の中でメラニン色素が合成・貯蔵される。そしてメラノソームは細胞膜に運ばれ、メラノサイトの樹状突起を介して表皮のケラチノサイトへと運ばれて行き、色が黒くなったりシミ・ソバカスができたりする。メラノソームの輸送は、最初の段階ではキネシンがモーターとなって微小管の上を進み、次いでメラノソーム上のRab27AがSlac2-aのSHDに結合し、やはりSlac2-aに結合したミオシンVaがモーターとなってアクチン線維に沿って細胞膜近くまで進む。そこでRab27Aは今度はSlp2-aに結合し、そのC2Aドメインを介して細胞膜につなぎ止められ（左下図）、最終的にメラニン色素は次のケラチノサイトや毛母細胞に渡されていく。Rab27Aが欠損していると、メラノソームは細胞膜まで運ばれないのでメラノサイトの核近くにとどまってしまう、Griscelli症候群では肌や髪の毛のメラニン色素の減少が生じるのだ。

独立主幹研究員4年目で東北大学教授となった福田独立主幹研究員は、「Slac2はじつは神経細胞にもあり、最近では神経に戻って進めている課題もあります。ユニットのメンバー全員が、ユニット最終年の5年目の今年には論文を出すことができましたが、今後の研究の場、働きの場をきちんと見届けることも独立主幹研究員の重大な責務でしょう」と話を結んだ。

PROFILE

福田 光則（ふくだ みつなり）

1968年東京都生まれ。1990年東北大学理学部生物学科卒業。1992年東北大学大学院理学研究科修士課程修了。1996年東京大学大学院医学系研究科博士課程修了。医学博士。1996年日本学術振興会特別研究員。1998年理化学研究所脳科学総合研究センター研究員。2002年4月から同研究所福田独立主幹研究ユニットのユニットリーダーに就任し今日に至る。本年4月から東北大学大学院生命科学系研究科教授。なお、この間日本生化学会奨励賞、花王研究奨励賞などを受賞。

研究ユニットホームページ：
<http://www.riken.go.jp/r-world/research/lab/iru/fukuda/>