

薬学博士宇井理生君の「細胞情報伝達におけるGTP結合

蛋白質の役割に関する研究」に対する授賞審査要旨

生命体を構成する細胞は、常に細胞外から情報を受容し、応答する。その結果、物質代謝、内外分泌、形態変化（例えば筋肉の収縮）など重要な細胞機能がすべて正常に進行する。このような細胞による情報の受容と応答のメカニズムは、比較的最近になって情報伝達（系）と呼ばれるようになり、生命科学の中心的な課題の一つとなっている。いうまでもなく、ホルモンや神経伝達物質は細胞に情報を与える物質の代表的なものである。宇井君は昭和三五年（一九六〇年）頃から、ホルモンであり神経伝達物質でもあるエピネフリン（別名アドレナリン）の作用に関する研究を始めた。動物の個体レベルでの作用を対象に始った同君の研究は分子レベルにまで発展し、GTP結合蛋白質（略称G蛋白質）の情報伝達系における役割の広く、かつ重要であることが、同君の研究により初めて明らかにされたものである。

1. エピネフリンに対する細胞応答を特異的に修飾する新物質 IAP（百日咳毒素）の発見

宇井君はその研究の初期において、エピネフリンの動物個体に対する作用（すなわちアドレナリン作動性 (adren-ergic) 受容体刺激に対する細胞応答) が、その個体の内部環境（例えば体液 pH）が変化すると著しい修飾を受けることを見出した。この修飾部位こそが細胞の情報受容機構におけるキーポイントであろうと考えた同君は、同様の

修飾を強く起こさせる物質を探し求め、遂にこのような作用を有する蛋白質が、百日咳ワクチンに含まれていることを発見し、精製した。この物質を、宇井君は精製の指標とした活性に因んで、脾島活性化蛋白質 (spleen-activating protein—略して IAP) と名付けたが、同君自身の研究によって、すぐに百日咳毒素そのものであることが判明した。百日咳菌は多彩な生物活性を示す毒素を産生することが知られていたが、その実質的な精製も作用機構の解析もそれまで全く成功していなかったものである。

II、百日咳毒素 (IAP) の標的部位としての新しい G 蛋白質 G_i の発見

宇井君が IAP を精製した一九七八年頃は、ホルモンや神経伝達物質の受容体 (例えばβ-アドレナリン作動性受容体) を刺激すると、同じ細胞膜に存在する G 蛋白質 (当時知られていた唯一のもの) を介して酵素アデニレートシクラーゼが活性化され、生成するサイクリック AMP (cAMP) が、細胞内情報物質として機能することが知られていた。同君はα-アドレナリン作動性受容体を含む一部の受容体の刺激が、逆にアデニレートシクラーゼ活性を抑制することを観察し、IAP を細胞に作用させると、それまで知られていたものとは異なる G 蛋白質が ADP リボシル化されて、アデニレートシクラーゼ抑制性の情報が遮断されることを見出した。すなわち、このような抑制性の情報を伝える G_i の存在を、IAP の標的蛋白質として明らかにした。この発見の結果、それまで知られていた唯一の G 蛋白質は G_s と呼ばれるようになった。結局、宇井君は重要な細胞内情報物質 cAMP の産生に関して、G_s と G_i による二重調節機構を明らかにしたことになるのである。

III、情報転換因子としてのG蛋白質の普遍的役割の確立

宇井君は、IAP が無傷細胞に作用して、細胞に全く傷害も与えずに、受容体からG蛋白質への情報の伝達を遮断することを証明した。すなわち、IAP は分子量一七、〇〇〇の多量体蛋白質であるが、その独特のA-B構造を利用して細胞の生理現象であるエンドサイトシスの過程を経て、細胞内に侵入しプロセシングによって酵素活性を獲得し、細胞内のG蛋白質をADP-リボシル化して情報を遮断する。このように、IAP は *in vivo*, *in vitro* ともに用いることのできる(無傷細胞内の)G蛋白質の優れたプローブ(探索針)である。ある細胞にIAPを作用させた時、受容体の刺激に対してその細胞がもはや応答しなくなったならば、この事実はその受容体がG蛋白質を介して情報を伝達するという決定的な証拠を与えることになる。

宇井君は自ら導入したこの原理を用いて、当時cAMP系と並んでその情報伝達系としての重要性が急速に明らかにされつつあった、いわゆるホスホイノシチド(PI)代謝回転のG_β動員とCキナーゼ)系もIAPで遮断されるといふ事実を出発点に、ホスホリパーゼCがG蛋白質を介して活性化されることを証明した。この知見は、それまで単にアデニレートシクラーゼ調節因子に過ぎないと考えられていたG蛋白質が、他の情報伝達系においても機能することを示した画期的なものである。更に同君は他の多くの情報伝達系にもG蛋白質が介在することを明らかにし、細胞外情報を、細胞内情報に転換する情報転換因子としてのG蛋白質の普遍的役割の確立に成功した。

IV、G蛋白質の反応機構の分子レベルにおける解析

宇井君は動物の脳組織を始めとする数種の臓器から、多種のG蛋白質をIAPの標的蛋白質として精製して、その

遺伝子、アミノ酸配列、サブユニット構造を決定し、反応機構を解析した。視細胞にのみ選択的に発現しているトランスジューシン (Gt) を別にして、IAP 基質としての G 蛋白質は現在遺伝子レベルで四〜五種、蛋白質として四〜六種が同定精製されている。いずれも $\alpha\beta\gamma$ 三量体構造を有し、共役する受容体の刺激によって、解離生成する GTP 結合 α と $\beta\gamma$ が種々の効果基を活性化する機構が明らかにされた。

このような IAP を活用しての独創的な G 蛋白質研究の成果は世界的に大きな反響を呼び、例えば一九八四年中に世界中で発表された生命科学分野の論文のうち一九八四—五年に最も多く引用された上位一〇〇篇中宇井君の論文はその六二位であり、また同様にその翌年度は全体の二五位で日本人としては二位だった。ちなみに、同君の最近の研究は文部省科学研究費特別推進研究によって行なわれている。更に上記の業績に対して、第一回アップジョン科学研究フェロシップ賞、第三回上原賞、平成二年度薬学会賞、パウル・エーリッヒルトウイッヒ・ダルムシュテター賞 (Paul Ehrlich-Ludwig Darmstädter Preis) (一九九一年) が贈られた。

主要な発表論文 (原著) 目録

I、アドレナリン受容体刺激に対する細胞応答の修飾及び関連した知見

1. Uj, M.: Blockage of epinephrine-induced hyperglycemia during exposure to simulated altitudes. *Am. J. Physiol.* 209: 353-358 (1965).
2. Yajima, M. and M. Uj.: Hydrocortisone restoration of the pH-dependent metabolic responses to catecholamines. *Am. J. Physiol.* 228: 1053-1059 (1975).
3. Sumi, T. and M. Uj.: Potentiation of the adrenergic beta-receptor-mediated insulin secretion in pertus-

- sis-sensitized rats. *Endocrinology* 97: 352-357 (1975).
4. Kusakata, M. and M. Ui: Activation of the Cori cycle by epinephrine. *Am. J. Physiol.* 232: E145-E155 (1977).
 5. Katada, T. and M. Ui: Perfusion of the pancreas isolated from pertussis-sensitized rats: Potentiation of insulin secretory responses due to β -adrenergic stimulation. *Endocrinology* 101: 1247-1255 (1977).
 6. Okajima, F. and M. Ui: Adrenergic modulation of insulin secretion *in vivo* dependent on thyroid states. *Am. J. Physiol.* 234: E106-E111 (1978).

参考文献

- 口「 同田隆博 等 (IAP) の製法」
 口「 ホトトリカニニ轉動及びその生理的性質」
1. Yajima, M., K. Hosoda, Y. Kanbayashi, T. Nakamura, K. Nogimori, Y. Nakase and M. Ui: Islet-activating protein in *Bordetella pertussis* that potentiates insulin secretory responses of rats. Purification and characterization. *J. Biochem.* 83: 295-303 (1978).
 2. Katada, T. and M. Ui: Islet-activating protein. Enhanced insulin secretion and cyclic AMP accumulation in pancreatic islets due to activation of native calcium ionophores. *J. Biol. Chem.* 254: 469-479 (1979).
 3. Katada, T. and M. Ui: Slow interaction of islet-activating protein with pancreatic islets during primary culture to cause reversal of α -adrenergic inhibition of insulin secretion. *J. Biol. Chem.* 255: 9580-9588 (1980).
 4. Hazeki, O. and M. Ui: Modification by islet-activating protein of receptor-mediated regulation of cyclic AMP accumulation in isolated rat heart cells. *J. Biol. Chem.* 256: 2856-2862 (1981).

5. Katada, T. and M. Ui: Direct modification of the membrane adenylate cyclase system by islet-activating protein due to ADP-ribosylation of a membrane protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79: 3129-3133 (1982).
 6. Katada, T. and M. Ui: ADP-ribosylation of the specific membrane protein of C 6 cells by islet-activating protein associated with modification of adenylate cyclase activity. *J. Biol. Chem.* 257: 7210-7216 (1982).
 7. Tamura, M., K. Nogimori, M. Yajima, K. Ase and M. Ui: A role of the B-oligomer moiety of islet-activating protein, pertussis toxin, in development of the biological effects on intact cells. *J. Biol. Chem.* 258: 6756-6761 (1983).
 8. Nogimori, K., M. Tamura, M. Yajima, N. Hashimura, S. Ishii and M. Ui: Structure-function relationship of islet-activating protein, pertussis toxin: Biological activities of hybrid toxins reconstituted from native and methylated subunits. *Biochemistry* 25: 1355-1363 (1986).
- 型 | ○ 纏
- 目' 田口 齋藤 繁の 腺 苷 酸 結 合 受 容 体 の Gi の 阻 害
1. Murayama, T. and M. Ui: Loss of the inhibitory function of the guanine nucleotide regulatory component of adenylate cyclase due to its ADP-ribosylation by islet-activating protein, pertussis toxin, in adipocyte membrane. *J. Biol. Chem.* 258: 3319-3326 (1983).
 2. Kurose, H., T. Katada, T. Amano and M. Ui: Specific uncoupling by islet-activating protein, pertussis toxin, of negative signal transduction via α -adrenergic, cholinergic, and opiate receptors in neuroblastoma x glioma hybrid cells. *J. Biol. Chem.* 258: 4870-4875 (1983).

3. Murayama, T. and M. Ui: [³H]GDP release from rat and hamster adipocyte membranes independently linked to receptors involved in activation or inhibition of adenylylate cyclase. Differential susceptibility to two bacterial toxins. *J. Biol. Chem.* 259: 761-769 (1984).

池五編

NI' 青森県立医科大学薬学部の研究

1. Okajima, F. and M. Ui: ADP-ribosylation of the specific membrane protein by islet-activating protein, pertussis toxin, associated with inhibition of a chemotactic peptide-induced arachidonate release in neutrophils. A possible role of the toxin substrate in Ca²⁺-mobilizing biosignaling. *J. Biol. Chem.* 259: 13863-13871 (1984).
2. Nakamura, T. and M. Ui: Simultaneous inhibitions of inositol phospholipid breakdown, arachidonic acid release, and histamine secretion in mast cells by islet-activating protein, pertussis toxin. A possible involvement of the toxin-specific substrate in the Ca²⁺-mobilizing receptor-mediated biosignaling system. *J. Biol. Chem.* 260: 3584-3593 (1985).
3. Okajima, F., T. Katada and M. Ui: Coupling of the guanine nucleotide regulatory protein to chemotactic peptide receptors in neutrophil membranes and its uncoupling by islet-activating protein, pertussis toxin. A possible role of the toxin substrate in Ca²⁺-mobilizing receptor-mediated signal transduction. *J. Biol. Chem.* 260: 6761-6768 (1985).
4. Murayama, T. and M. Ui: Receptor-mediated inhibition of adenylylate cyclase and stimulation of arachidonic acid release in 3T3 fibroblasts. Selective susceptibility to islet-activating protein, pertussis toxin. *J. Biol. Chem.* 260: 7226-7233 (1985).

5. Ohta, H., F. Okajima and M. Ui: Inhibition by islet-activating protein of a chemotactic peptide-induced early breakdown of inositol phospholipids and Ca^{2+} mobilization in guinea pig neutrophils. *J. Biol. Chem.* 260: 15771-15780 (1985).

他三五篇

▷ 〇脚血質〇糖碱及〇糖増〇区〇糖糖〇糖糖

1. Katada, T., M. Oinuma and M. Ui: Mechanisms for inhibition of the catalytic activity of adenylylate cyclase by the guanine nucleotide-binding proteins serving as the substrate of islet-activating protein, pertussis toxin. *J. Biol. Chem.* 261: 5215-5221 (1986).
2. Kurose, H., T. Katada, T. Haga, K. Haga, A. Ichiyama and M. Ui: Functional interaction of purified muscarinic receptors with purified inhibitory guanine nucleotide regulatory proteins reconstituted in phospholipid vesicles. *J. Biol. Chem.* 261: 6423-6428 (1986).
3. Katada, T., M. Oinuma and M. Ui: Two guanine nucleotide-binding proteins in rat brain serving as the specific substrate of islet-activating protein, pertussis toxin. Interaction of the α -subunits with $\beta\gamma$ -subunits in development of their biological activities. *J. Biol. Chem.* 261: 8182-8191 (1986).
4. Itoh, H., T. Kozasa, S. Nagata, S. Nakamura, T. Katada, M. Ui, S. Iwai, E. Ohtsuka, H. Kawasaki, K. Suzuki and Y. Kaziro: Molecular cloning and sequence determination of cDNAs for α -subunits of the guanine nucleotide-binding proteins Gs, Gi, and Go from rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 3776-3780 (1986).
5. Katada, T., K. Kusakabe, M. Oinuma and M. Ui: A novel mechanism for the inhibition of adenylylate cyclase via inhibitory GTP-binding proteins. Calmodulin-dependent inhibition of the cyclase catalyst by

- the β -subunits of GTP-binding proteins. *J. Biol. Chem.* 262: 11897-11900 (1987).
6. Murayama, T., Y. Nomura and M. Ui: Enhancement of adenosine A_2 and prostaglandin E_1 receptor-mediated cAMP generation by prior exposure of Swiss 3T3 fibroblasts to Ca^{2+} -mobilizing receptor agonists or phorbol ester. *J. Biol. Chem.* 264: 15186-15191 (1989).

他二五篇