

平成 27 年 10 月 28 日

## 細胞内物質輸送を担う Rab11 を活性化する 新しい制御因子 REI-1 の発見

### 【概要】

ヒトをはじめとするすべての動物は細胞で構成されています。これらの細胞の中には様々な機能を持つオルガネラと呼ばれる小器官が存在し、活発かつ正確に物質のやりとりを行っています。この細胞内物流システムをコントロールしているキープレイヤーの1つが Rab タンパク質です。ヒトには 60 種以上の Rab タンパク質が存在しますが、このうち Rab11 タンパク質は細胞内と細胞表面のタンパク質のリサイクリングや分泌、細胞の移動、細胞の分裂など生命にとって非常に重要な役割を担っています。例えば、Rab11 タンパク質は血糖値を下げるホルモンであるインスリンの分泌やインスリンに反応して細胞表面に輸送され、血糖の取り込みに働く GLUT4 という糖輸送タンパク質の輸送にも働いています。また、Rab11 と様々な疾患の関連も報告されており、ガン細胞の転移やアルツハイマー病、ハンチントン病等の神経疾患との関連も示唆されています。このような Rab タンパク質は GDP/GTP 交換因子 (GEF; Guanine nucleotide Exchange Factor) と呼ばれるタンパク質によって活性化されることが知られていますが、これまで Rab11 のスイッチをオンにし、活性を上昇させる GDP/GTP 交換因子は見つかっていませんでした。

今回、群馬大学生体調節研究所細胞構造分野佐藤健教授、坂口愛沙 元助教（現 大阪大学 助教）および生体膜機能分野 佐藤美由紀准教授の研究グループは東京大学、埼玉大学との共同研究により、この Rab11 の活性化を促すまったく新しいタイプの GDP/GTP 交換因子を発見しました。

本研究では、基礎研究のモデルとしてよく用いられる *C. elegans* という線虫の Rab11 と結合する新規因子を探索し、線虫からヒトまで存在する REI-1 タンパク質を同定しました。そこで、線虫 REI-1 タンパク質とヒトの REI-1 タンパク質 (SH3BP5) を精製し、それぞれ Rab11 に対する影響を解析したところ、両者とも非常に強い GDP/GTP 交換因子の活性を示すことが明らかとなりました。この REI-1 タンパク質を欠損した線虫の受精卵では、Rab11 が正しい場所に存在できず受精卵の分裂に遅延が生じることから、REI-1 タンパク質の1つの機能は受精卵において Rab11 を正しい働き場所に導き、細胞分裂を制御することと考えられます。

本研究によって発見された REI-1 タンパク質は、線虫からヒトまで存在するまったく新しい因子であり、Rab11 が関連するガンや神経疾患、糖尿病等の治療薬開発における新たなターゲットとなる可能性があります。

### 【ポイント】

- 細胞内物質輸送を担う Rab11 の活性化因子として REI-1 を発見した。
- REI-1 は Rab11 に対するまったく新しい GDP/GTP 交換因子であった。
- REI-1 は線虫からヒトまで存在し、ヒト REI-1 (SH3BP5) も強い Rab11 活性化能を持っていた。
- REI-1 タンパク質の1つの働きは、Rab11 を細胞内の正しい場所に導き、受精卵の細胞分裂をサポートすることである。

本研究結果は、米国科学誌 *Developmental Cell* に（米国時間の10月26日午後0時（米国時間）付）で掲載予定です。

解禁：日本時間 平成27年10月27日 1:00 AM

## REI-1 is a guanine nucleotide exchange factor regulating RAB-11 localization and function in *C. elegans* embryos

Aisa Sakaguchi (坂口愛沙, 所属1, 共筆頭著者), Miyuki Sato (佐藤美由紀, 所属2, 共筆頭著者), Katsuya Sato (佐藤克哉, 所属2), Keiko Gengyo-Ando (安藤恵子, 所属3), Tomohiro Yorimitsu (依光朋宏, 所属4), Junichi Nakai (中井淳一, 所属3), Taichi Hara (原太一, 所属1), Ken Sato (佐藤健, 所属4), and Ken Sato (佐藤健, 所属1, 責任著者)

(所属1; 群馬大学 生体調節研究所 細胞構造分野)

(所属2; 群馬大学 生体調節研究所 生体膜機能分野)

(所属3; 埼玉大学 埼玉大学 理工学研究科/脳末梢科学研究センター)

(所属4; 東京大学 大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系)

### 【研究背景】

ヒトをはじめとするすべての動物は細胞で構成されています。これらの細胞の中には様々な機能を持つオルガネラと呼ばれる小器官が存在し、活発かつ正確に物質のやりとりを行っています。この細胞内物流システムをコントロールしているキープレイヤーの1つがRabタンパク質（以降、Rabと表記）です。ヒトには60種以上のRabタンパク質が存在し、それぞれに独自の役割を持っています（これまでに少なくとも6000以上のRab関連論文が発表されています）。このようなRabはGDP (guanosine di-phosphate; グアノシン-5'-二リン酸)とGTP (guanosine tri-phosphate; グアノシン-5'-三リン酸)を付け替えることによってあたかも分子スイッチのように働きます（図1）。簡単にいうと、RabにGDPが結合している時はスイッチオフですが、GTPが結合しているときはスイッチオンとなり、様々な機能を発揮します。また、このGTPがGDPに加水分解されるとスイッチオフになります。GTPの加水分解を伴うことから、Rabのようなタンパク質は低分子量GTPaseと呼ばれています。このスイッチをオンにするのが、GDP/GTP交換因子(GEF; Guanine nucleotide Exchange Factor)と呼ばれるタンパク質で、Rab等の活性化因子として知られています。

数多く存在するRabのうち、Rab11は細胞内と細胞表面の膜タンパク質のリサイクリングや分泌、細胞の移動、細胞の分裂など生命にとって非常に重要な役割を担っています（図2, 図3）。例えば、Rab11は血糖値を下げるホルモンであるインスリンの分泌 (Sugawaraら, *Genes to Cells*, 2009)やインスリンに反応して細胞表面に輸送され、血糖の取り込みに働くGLUT4という糖輸送タンパク質の輸送 (Kesslerら, *Diabetologia*, 2000)にも働いています。また、Rab11と様々な疾患の関連も報告されており、ガン細胞の転移やアルツハイマー病、ハンチントン病等の神経疾患との関連も示唆されています (Bhain & Roy, *IJMCM*, 2015)。

近年、数種類の GDP・GTP 交換因子が見つかってきていますが、Rab の中でも特に重要な役割を担う Rab11 の GDP/GTP 交換因子はこれまで同定されておらず、世界中の Rab 研究者が探していました。

## 【研究手法と結果】

今回、群馬大学生体調節研究所細胞構造分野佐藤健教授、坂口愛沙 元助教（現 大阪大学 助教）および生体膜機能分野 佐藤美由紀准教授の研究グループは東京大学、埼玉大学との共同研究により、この Rab11 の活性化を促すまったく新しいタイプの GDP/GTP 交換因子を発見しました。

本研究では、まず基礎研究のモデルとして用いられる *C. elegans* という線虫の Rab11 と結合する因子を探索しました。その結果、Rab11 の GDP 型（スイッチオフ型）と特異的に結合するタンパク質を発見し、REI-1 タンパク質（RAB-Eleven-Interacting protein-1; 以降 REI-1 と表記）と名付けました（図 4）。この REI-1 は線虫にもう 1 つ似たタンパク質（ホモログという）があり、これを REI-2 と名付けました。また、ヒトでは 2 種（SH3BP5, SH3BP5-like）やハエにも 1 種（Poirot）のホモログが存在することから、REI-1 は動物の中で広く存在する新たな Rab11 制御因子であると考えられました（図 5）。

私達は、REI-1 が Rab11 の GDP 型（スイッチオフ型）とよく結合することから、REI-1 が GDP/GTP 交換因子ではないかと推測しました。そこで、大腸菌において REI-1 を大量産生し、精製した後、Rab11 に対する GDP/GTP 交換能力について解析しました（図 6）。精製した Rab11 に蛍光標識した GDP (MANT-GDP) を結合したものに REI-1 を混ぜ、そこに GMP-PNP (GTP 類似物) を加えると、MANT-GDP がすみやかに解離し、GMP-PNP と交換されることが明らかとなりました（図 7）。さらに、ヒトの REI-1 ホモログである SH3BP5 に対しても同様の解析を行ったところ、SH3BP5 もヒトの Rab11 に対して強い GDP/GTP 交換活性を示すことが明らかとなりました（図 8）。また、線虫の REI-1 もヒト Rab11 に対して同様の活性を示しました（図 9）。これらのことから、本研究によって発見された REI-1 ファミリータンパク質は、動物において広く保存された Rab11 に対する GDP/GTP 交換因子であることが明らかとなりました。

次に、REI-1 の生理機能を明らかにするために、線虫を用いて解析を行いました。その結果、REI-1 と REI-2 の両者を欠損した線虫では、産卵数が減少することが明らかとなりました（図 10）。そこで、さらに詳しく解析したところ、受精卵における Rab11 の位置が異常になっていることが明らかとなりました（図 10, 11, 12）。Rab11 は受精卵においてゴルジ体という場所に存在し、細胞が分裂する（卵割）際には細胞と細胞の分かれ目（細胞分裂面）のところにも移動して、細胞分裂を促進することが知られています。しかしながら、REI-1 もしくは REI-1;REI-2 の両者を欠損した線虫受精卵では、Rab11 がゴルジ体（図 10, 11）や細胞分裂面（図 12）に正しく存在できず、細胞内全体に分布してしまうことが判明しました。また、その結果として受精卵の細胞分裂に遅延が生じることが明らかとなりました（図 13）。以上の結果から、REI-1 の 1 つの機能は受精卵において Rab11 を正しい働き場所に導き、細胞分裂を制御することであると考えられます（図 14）。

## 【今後の展望】

本研究によって、REI-1 というこれまで不明であった Rab11 に対する GDP/GTP 交換因子が発見されました。REI-1 はこれまで報告されている Rab の GDP/GTP 交換因子とはあまりアミノ酸配列が似ておらず、また脂質の膜に結合するなど非常にユニークな特性を持つまったく新しい因子です。また、興味深いことに REI-1 は線虫からヒトまで存在するまったく新しい因子であり、ヒトの REI-1 ホモログである SH3BP5 もヒト Rab11 に対して強い GDP/GTP 交換因子としての活性を示しました。ヒトの Rab11 は 3 種類 (Rab11A, Rab11B, Rab11C (Rab25)) 存在することが報告されています (図 15)。Rab11A, Rab11B に関しては、アルツハイマー病の 1 つの原因である  $\beta$  アミロイドの産生に働くことが報告されており、アルツハイマー病の患者さんの遺伝子 (exome) 解析でも関連性が示唆されています (Udayar ら, Cell Reports, 2013)。また、Rab11C (Rab25) に関しては、卵巣ガンや乳ガンにおいて高発現しており、この因子が細胞表面にある  $\alpha 5 \beta 1$  インテグリンという因子を活発にリサイクリングさせることによって、細胞移動を促進し、ガン細胞の転移に関与すると考えられています (Dozynkiewicz ら, Dev. Cell, 2012)。Rab11 自体は生物にとって必須なので阻害することは困難ですが、今回発見した REI-1 ファミリータンパク質は Rab11 が関連するガンや神経疾患、糖尿病等の治療薬開発における新たなターゲットとなる可能性があります。

本研究は科研費 基盤研究 B, 若手研究 B 等のご支援による研究です。

連絡先

群馬大学生体調節研究所 細胞構造分野

佐藤健

電話: 027-220-8843, 8840 FAX: 027-220-8844 E-mail: [sato-ken@gunma-u.ac.jp](mailto:sato-ken@gunma-u.ac.jp)