

NMRによるヘパリン/ヘパラン硫酸を介した増殖因子のシグナル伝達の分析

稲垣 冬彦 (北海道大学大学院薬学研究科)

はじめに プロテオグリカンは、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリンなどのグリコサミノグリカンとたんぱく質が共有結合した糖蛋白質である。細胞外マトリックスの主要な構成成分として、また、細胞表面、細胞内小胞体などに広く分布し、細胞の接着、形態、移動、増殖、分化などを細胞外から調節する役割を担う。中でも細胞表面のヘパリン、ヘパラン硫酸は多くの細胞増殖因子と特異的に結合し、増殖因子を安定化したり、その貯蔵や放出、会合などを調節するモジュレーターとして、機能発現に重要な役割を果たしている。これらヘパリン結合能をもつ一群の増殖因子はヘパリン結合性成長因子と呼ばれている。

増殖因子のシグナル伝達においては、増殖因子が受容体の細胞外ドメインへ結合し、それによって何らかの機構が働いて受容体の多量化が誘起され、受容体の細胞内ドメインのチロシンキナーゼ部位がオリゴマー間で相手のチロシンをリン酸化することにより、シグナルが伝達される。すなわち、増殖因子のシグナルが細胞外から細胞内へ伝えられるステップは、受容体の多量化であると考えることができる。ヘパリン結合性成長因子の場合、受容体の多量化には、ヘパリン/ヘパラン硫酸が必須の役割を果たしている。近年、繊維芽細胞増殖因子 (FGF) とヘパリン、受容体細胞外ドメインとの三者複合体の立体構造が明らかにされ、このプロセスが解明されつつある。

本講演では、ヘパリン結合蛋白質として、aFGF とミッドカインの立体構造を NMR 法により決定し、ヘパリンとの相互作用部位について検討し、ヘパリン/ヘパラン硫酸複合体形成の構造生物学意義について述べる。

aFGF とヘパリンの相互作用 aFGF の構造は β -trfoil (三つ葉) 構造であった。ヘパリン結合部位は塩基性残基から構成される面に存在し

た。X線結晶構造解析より、1分子のヘパリンが2分子のaFGFに挟まれた構造が報告されたが、結晶化による影響と考えられる。FGFレセプター/ヘパリン/aFGF三者複合体の構造は、ヘパリンはNMRにより決定されたaFGFとの相互作用面に結合するとともに、FGFレセプターとも結合し安定な複合体形成にかかわっていることが明らかにされた。ヘパリン硫酸を介した二量体化の機構と考えられる。

ミッドカインとヘパリンの相互作用 ミッドカインは村松等により発見された新規ヘパリン結合性成長因子である。多彩な機能を有するが、機能発現にはヘパリン/ヘパリン硫酸との相互作用が必要である。我々はヘパリン結合に関与するC端側ミッドカイン(62-104)について立体構造を決定し、ヘパリンとの相互作用を解明した。光散乱により、ヘパリンとの相互作用を解析した結果、12糖では1:1の結合、20糖以上では1分子のヘパリンに2分子のミッドカインが結合することがわかった。また、20糖以上では結合親和性も亢進していた。ミッドカインは20糖以上のヘパリン/ヘパリン硫酸にhead to headで二量体を形成して結合すること、二量体形成により、分子間のインターフェースに塩基性部位が形成され、多価でヘパリン/ヘパリン硫酸に結合できる。このため、ヘパリンへの親和性が高まったと考えられる。ヘパリン/ヘパリン硫酸 ミッドカインを介したレセプター分子の二量体化の機構を示唆していると考えられる。