

2026 年 2 月 10 日

G α ノックアウト細胞で切り分けた GPCR シグナル

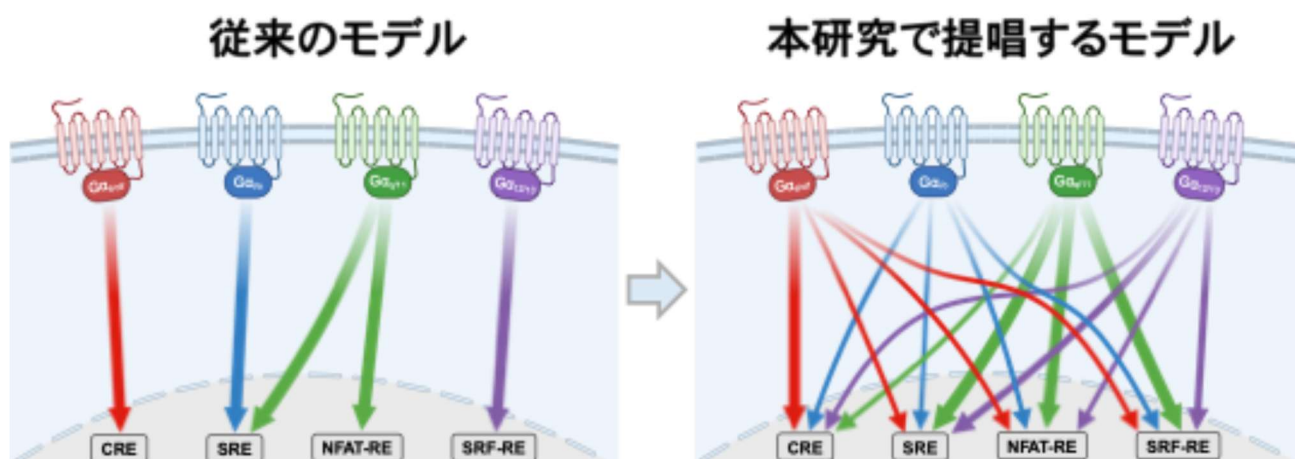
– “特異的”と信じられてきた転写レポーターの再定義 –

概要

齋藤郁貴 京都大学大学院薬学研究科博士課程学生、木瀬亮次 同助教、ならびに井上飛鳥 同教授（兼：東北大学大学院薬学研究科教授）の研究グループは、G α タンパク質の遺伝子欠損細胞を用いた網羅的な解析によって G α タンパク質による転写活性制御を精緻に対応付けしました。

G タンパク質共役型受容体 (G-protein-coupled receptor: GPCR) は、細胞外のシグナル分子と結合することで活性化状態に構造変化し、G α タンパク質^{*1} (G $\alpha_{s/olf}$ 、G $\alpha_{i/o}$ 、G $\alpha_{q/11}$ 、G $\alpha_{12/13}$ の 4 つのサブファミリーに大別される) を介して細胞内シグナルを伝達します。これまで、GPCR によって誘導される転写応答配列^{*2}の制御は、それぞれ特定の G α サブファミリーのシグナルの活性化に対応して生じると想定されていましたが、その対応関係は十分に検証されていませんでした。本研究では、内因性 G α タンパク質を CRISPR-Cas9 法により個別に遺伝子欠損させたノックアウト細胞を用いて系統的に解析しました。その結果、G α タンパク質と転写応答配列の関係は、従来考えられていたよりも多様であることが明確になりました。本研究は、GPCR を介した転写活性の解釈に新たな視点を提供するものであり、今後の GPCR シグナル解析や創薬研究への貢献が期待されます。

本研究成果は、2026 年 1 月 23 日に国際学術誌「Communications Biology」にオンライン掲載されました。



本研究で明らかにした G α タンパク質と転写応答配列の新たな対応関係

1. 背景

G タンパク質共役型受容体 (G-protein-coupled receptor : GPCR) は、神経伝達物質やホルモンなど多様な細胞外分子を受容する膜タンパク質であり、ヒトでは約 800 種類が存在します。現在、承認薬の約 3 割が GPCR を標的としていますが、GPCR を標的とした医薬品の効果や副作用は、その下流で誘導されるシグナル伝達のあり方に大きく依存します。そのため、GPCR がどのような細胞内シグナルを引き起こし、最終的にどのような細胞応答や遺伝子発現につながるのかを理解すること、すなわち GPCR によるシグナル伝達機構の解明は、創薬研究における重要な課題です。

GPCR はその名の通り、細胞質側で G タンパク質と相互作用し、その活性化を促すことで下流にシグナルを伝達します。G タンパク質のシグナル活性を評価する代表的な手法として転写レポーターアッセイ^{*7}があり、4 種類の転写応答配列 (CRE^{*3}、SRE^{*4}、NFAT-RE^{*5}、SRF-RE^{*6}) が広く用いられてきました。従来、これらの転写応答配列は、4 種の $G\alpha$ タンパク質サブファミリー ($G\alpha_{s/olf}$ 、 $G\alpha_{i/o}$ 、 $G\alpha_{q/11}$ 、 $G\alpha_{12/13}$) にそれぞれ一対一で対応すると考えられてきましたが、その妥当性は十分に検証されていませんでした。

$G\alpha$ タンパク質と転写応答配列の関係を正確に理解することは、GPCR シグナルの下流で、どのように複数のシグナル経路が連携し、遺伝子発現が制御されているのかを明らかにするうえで重要です。そこで本研究では、各 $G\alpha$ タンパク質サブタイプと転写応答配列との対応関係を系統的に解析し、GPCR 活性化時に細胞内のどのシグナル経路が実際に機能しているのかを明らかにすることを目指しました。

2. 研究手法・成果

はじめに、異なる $G\alpha$ タンパク質共役パターンを示す 9 種類の G タンパク質共役型受容体 (GPCR) を選定し、HEK293 細胞^{*8} に過剰発現させたうえで、リガンド刺激後の 4 種類の転写応答配列 (CRE、NFAT-RE、SRE、SRF-RE) に対する転写活性を解析しました (図 1A)。その結果、転写活性のパターンはこれら 4 種類の転写応答配列ごとに明確に分類されることが明らかになりました (図 1B)。特に、SRE と SRF-RE は互いに類似した活性パターンを示し、共通した $G\alpha$ タンパク質による制御を受けている可能性が示唆されました。また、転写応答配列の種類によって、特定の $G\alpha$ タンパク質と共役する受容体に対して選択的に応答するものと、より広範な受容体に応答するものが存在することが明らかになりました。

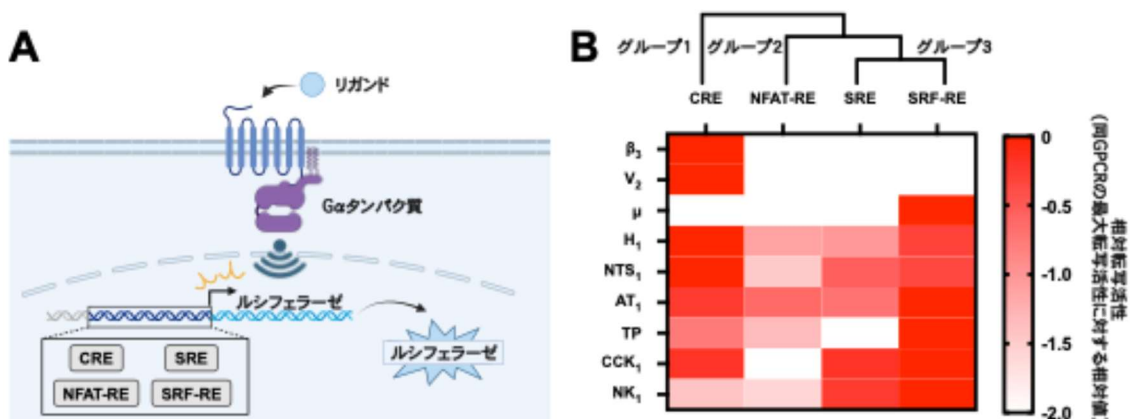


図1. 異なる GPCR による転写応答配列の転写活性パターンの評価

A) レポーターアッセイの概要図。HEK293 細胞に各 GPCR と、下流にルシフェラーゼ遺伝子を融合した転写応答配列 (以下、転写レポーター) を過剰発現させ、リガンド刺激後に誘導されるルシフェラーゼ発現とその基質の代謝に伴う発光を指標として、転写活性を定量的に評価した。

B) GPCR による相対転写活性パターン。4 つの $G\alpha$ タンパク質サブファミリーと異なる共役性を示す GPCR による転写活性パターンを解析した。各 GPCR において検出された最大転写活性で正規化した値をヒートマップ上に表示している。単一の $G\alpha$ タンパク質サブファミリーと共役する GPCR (β_3 、 V_2 、 μ) では特異的な転写活性パターンが認められた。一方、複数の $G\alpha$ タンパク質と共役することが知られている GPCR では、複数の転写応答配列にまたがる転写活性が検出された。

次に、各 $G\alpha$ タンパク質サブファミリーの寄与を詳細に解析するため、HEK293 細胞に内因性に発現する $G\alpha$ タンパク質サブファミリーを CRISPR-Cas9 法⁹により個別に欠損させた複数の細胞株を用いて、同様の解析を行いました (図 2)。その結果、いずれの $G\alpha$ タンパク質サブファミリーを欠損させた場合でも、すべての転写応答配列の活性が一定程度低下することが分かりました (図 2B)。この結果は、単一の $G\alpha$ タンパク質のみが特定の転写応答を担うのではなく、複数の $G\alpha$ タンパク質サブファミリーが協調的に転写応答配列の活性制御に関与していることを示しています。

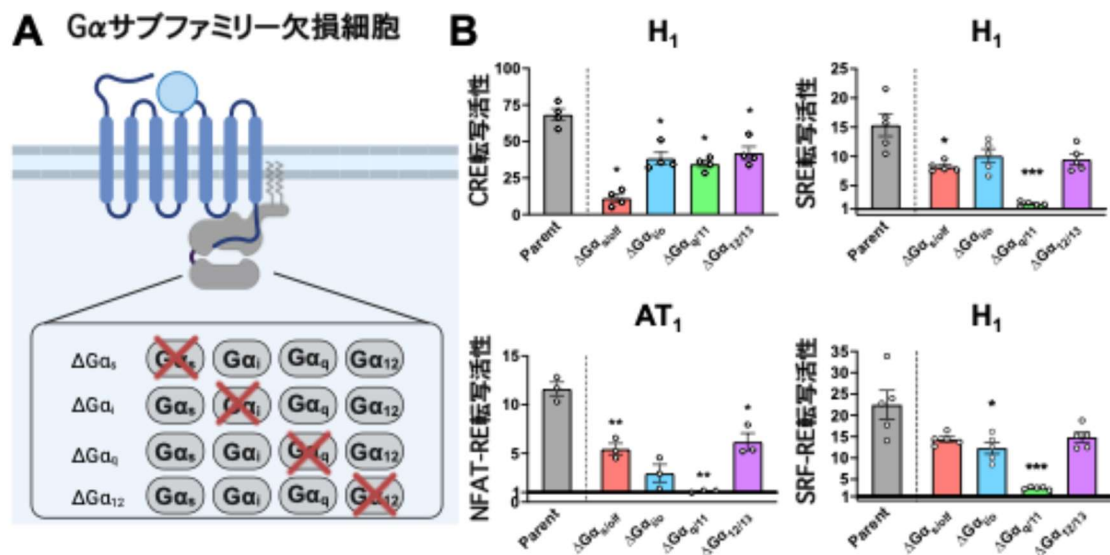


図 2. $G\alpha$ タンパク質サブファミリー欠損細胞を用いた解析

- A) $G\alpha$ タンパク質サブファミリー欠損細胞の概要図。内在性に発現している $G\alpha$ タンパク質を、サブファミリーごとに CRISPR-Cas9 法を用いて遺伝子欠損させた細胞に対し、図 1A と同様に GPCR および各転写レポーターを過剰発現させることで、それぞれの $G\alpha$ タンパク質サブファミリーの寄与を評価した。
- B) 各転写応答配列の転写活性に対する $G\alpha$ タンパク質サブファミリーの寄与の評価。複数の $G\alpha$ タンパク質との共役性を示す H_1 受容体を用いた解析では、CRE、SRE、SRF-RE の転写活性が各 $G\alpha$ タンパク質サブファミリー欠損細胞において低下した。NFAT-RE については、最も顕著な応答を示した AT_1 受容体 (図 1B) を用いて評価した結果、他の転写レポーターと同様に、各 $G\alpha$ タンパク質サブファミリー欠損細胞において転写活性の低下が認められた。

さらに、各 $G\alpha$ タンパク質サブファミリーに属する 13 種類の $G\alpha$ タンパク質サブタイプの寄与を明らかにするため、すべての $G\alpha$ タンパク質を遺伝子欠損させた細胞に対して、各 $G\alpha$ タンパク質サブタイプを個別に再発現させ、転写活性を評価しました (図 3A)。 $G\alpha$ タンパク質が完全に欠失した条件では、いずれの

転写応答配列においても転写活性は全く検出されませんでした。一方で、 $G\alpha_{s/olf}$ タンパク質を再発現させた場合には CRE の転写活性が回復し、 $G\alpha_{q/11}$ サブファミリーに属する $G\alpha$ サブタイプを再発現させた場合には、SRE、SRF-RE および NFAT-RE の転写活性が選択的に回復することが明らかになりました (図 3B)。これらの結果は、各転写応答配列の活性化において、それぞれ主要な役割を担う $G\alpha$ タンパク質が存在することを示しています。

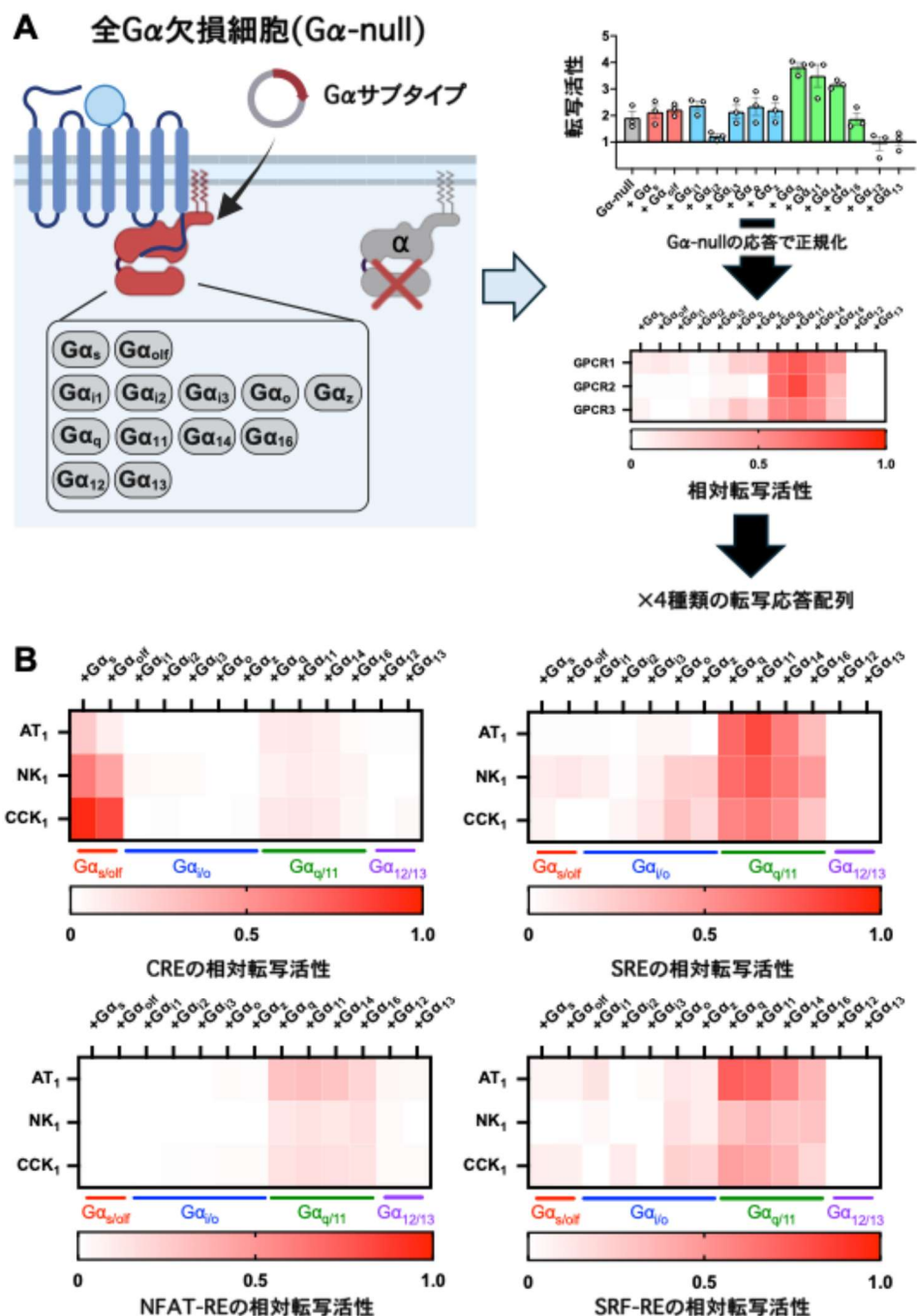


図 3. 全 $G\alpha$ タンパク質欠損細胞 ($G\alpha$ -null) を用いた解析

A) $G\alpha$ -null 細胞と本研究で用いた解析法の概要図。外部から任意の $G\alpha$ サブタイプのプラスミドを導入することで、各 $G\alpha$ サブタイプの寄与を個別に評価することが可能である。リガンド刺激後に検出された各 $G\alpha$ サブタイプの応答を、 $G\alpha$ -null 条件で検出された応答で正規化し、さらに GPCR における最大応答を 1.0 とした相対値としてヒートマップ上に示している。

B) 13 種類の $G\alpha$ タンパク質サブタイプによる転写活性の評価。CRE の応答は、 $G\alpha_{s/olf}$ タンパク質を再発現させた条件で最も顕著な回復が認められた。SRE、NFAT-RE、SRF-RE の応答は、 $G\alpha_{q/11}$ サブファミリーに属する $G\alpha$ サブタイプを再発現させた条件でのみ回復が認められた。 $G\alpha_{12/13}$ タンパク質については、リガンド刺激非依存的に高い転写活性が観察された一方で、リガンド刺激による応答の増加は検出されなかった。この結果は、 $G\alpha_{12/13}$ がこれらの転写応答配列をリガンド非依存的に制御していることを示唆している。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により、これまで単純化して捉えられてきた $G\alpha$ タンパク質と転写応答配列の関係が、実際には複数の $G\alpha$ タンパク質由来のシグナルが分岐・収束を繰り返す多層的なネットワークの一部として機能していることが明らかになりました。この知見は、転写レポーターアッセイを $G\alpha$ タンパク質シグナル評価の指標として用いる際に、シグナルの多層性や交差を踏まえた解釈の重要性を示しています。本研究では代表的な 4 種類の転写応答配列を対象としましたが、生体内では GPCR 下流で制御される転写応答配列が他にも多数存在します。今後、これら多様な転写応答配列を網羅的に解析することで、GPCR による転写制御機構の全体像がより明確になると期待されます。これらの細胞シグナル伝達の基盤となる知見は、細胞応答の深いレベルでの理解や、標的選択性に優れた創薬研究への展開につながると考えられます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会 (JP24K21281、JP25H01016)、科学技術振興機構 (JST) 創発的研究支援事業 (JPMJFR215T) などの支援を受けて実施されました。本論文は『東北大学 2025 年度オープンアクセス推進のための APC 支援事業』の支援を受け、Open Access となっています。

<用語解説>

*1 $G\alpha$ タンパク質

G タンパク質共役型受容体 (GPCR) の下流で働くシグナル伝達分子。GTP との結合およびその加水分解を通じて、細胞内シグナルのオン・オフを制御する。 $G\alpha$ 、 $G\beta$ 、 $G\gamma$ からなるヘテロ三量体 G タンパク質の構成要素の一つ。

*2 転写応答配列

転写因子が結合することで、近傍の遺伝子の発現量を調節する DNA 上の約 6~20 塩基からなる配列。

*3 CRE (cAMP response element)

細胞内の cAMP 量の変化に応答する遺伝子発現制御配列。

*4 SRE (serum response element)

増殖や細胞骨格制御に関わるシグナルに応答する配列。

*5 NFAT-RE (nuclear factor of activated T cells response element)

細胞内カルシウム上昇およびカルシニューリン活性化に応答する転写応答配列。

*6 SRF-RE (serum response factor response element)

細胞形態変化や運動性に関わるシグナルに応答する配列。

*7 レポーターアッセイ

標的遺伝子の転写制御領域の下流に、発光または蛍光タンパク質をコードする遺伝子を連結し、その発現量

を指標として転写制御領域の活性を定量的に評価する実験手法。

*8 HEK293 細胞

ヒト胎児腎臓細胞に由来する細胞株。遺伝子導入効率が高く、GPCR やシグナル関連タンパク質を安定して発現させることができるため、GPCR 刺激に応じた細胞内シグナルや転写応答を解析する実験系として広く利用されている。

*9 CRISPR-Cas9

細菌などが外来遺伝子に対抗するために進化させた免疫機構を応用した遺伝子改変技術。特定の DNA 配列を切断し、細胞が本来もつ DNA 修復機構を利用することで、標的遺伝子の発現を欠損させることができる。

<研究者のコメント>

「GPCR のシグナル伝達において、G α タンパク質に由来するシグナルは中心的な役割を担っています。そのため、GPCR を標的とした創薬研究では、どの G α タンパク質が活性化されているのかを正確に評価することが非常に重要です。本研究で明らかにした G α タンパク質と転写応答配列との対応関係は、今後の GPCR シグナルの解釈精度を高め、創薬研究の発展に貢献することが期待されます。」（齋藤郁貴）

<論文タイトルと著者>

タイトル： Re-evaluating G α protein-response element specificity in GPCR signaling

（日本語訳：GPCR シグナル伝達における G α タンパク質と転写応答配列特異性の再検討）

著 者：齋藤郁貴^{1,2}，木瀬亮次^{1,2,*}，山口壮^{1,2}，柳川正隆^{1,2}，井上飛鳥^{1,2,*}

所属：¹京都大学 大学院薬学研究科、²東北大学 大学院薬学研究科、*責任著者

掲 載 誌：Communications Biology

DOI：10.1038/s42003-026-09569-z

<研究に関するお問い合わせ先>

井上 飛鳥（いのうえ あすか）

京都大学 大学院薬学研究科・教授

TEL：090-8008-9171

E-mail：aska@pharm.kyoto-u.ac.jp

X（Twitter）：@TohokuSeika

<報道に関するお問い合わせ先>

京都大学広報室国際広報班

TEL：075-753-5729

E-mail：comms@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp

東北大学大学院薬学研究科 総務係

TEL: 022-795-6801

E-mail: ph-som@grp.tohoku.ac.jp