

低親和性型インテグリンが誘導する 新規のインテグリン制御経路を 世界で初めて発見

【本件のポイント】

- インテグリン LFA1 細胞内動態の超解像イメージングに成功
- Rabin8-Rab8 経路による LFA1 avidity 制御機構を解明
- 新規免疫関連治療薬の開発や免疫治療法改良への展開を期待

学校法人関西医科大学（大阪府枚方市 理事長・山下敏夫、学長・木梨達雄）附属生命医学研究所分子遺伝学部門の近藤直幸講師らの研究チームは、超解像顕微鏡を駆使して白血球特異的接着分子インテグリン LFA1 の低親和性型コンフォメーションが誘導する LFA1 細胞内輸送の新規制御経路を発見しました。これにより新しい免疫関連疾患治療薬の開発や免疫治療法の改良への展開が期待されます。詳しい研究概要は次ページ以降の別添資料をご参照ください。

なお、本研究をまとめた論文が米国科学アカデミーの科学誌『PNAS Nexus』に8月8日（木）付で掲載されました。

1

■ 書誌情報

掲 載 誌	『PNAS Nexus』 https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgae332
論文タイトル	Low-affinity LFA1-dependent outside-in signaling mediates avidity modulation via the Rabin8-Rab8 axis
筆 者	Naoyuki Kondo, Yoshihiro Ueda, Tatsuo Kinashi

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（林・佐脇）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

別添資料

<本研究の背景>

インテグリンは細胞-細胞間、または細胞-細胞外マトリックス間の接着を制御し、個体発生やがんの浸潤・転移、免疫恒常性の維持等に重要な役割を果たします。今回注目した Lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA1) は α L鎖と β 2鎖の2つのサブユニットからなるヘテロ二量体膜タンパク質であり、白血球やリンパ球に特異的に発現するインテグリンの一つです。LFA1は生体内において細胞の移動や抗原の認識、がん化した細胞や病原体に感染した細胞の殺傷等に、接着を介して重要な役割を果たします。このため、リンパ球は抗原やケモカインの刺激を受けるとすみやかに接着を亢進させる機能を持っています。この機能は、LFA1のリガンドである intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) との親和性 (affinity) と、細胞接着面における LFA1 の局所的分子数 (avidity) の上昇という2つの様式によって調節されていることが知られています。当該部門では、これらの調節過程に低分子量Gタンパク質 Rap1 が重要な働きをしていることを明らかにしてきましたが、さらに最近、近藤講師らは LFA1 に対する ICAM1 やアダプター分子*1の結合キネティクス*2を一分子レベルで計測することに成功し、高親和性型 LFA1*3が誘導するシグナルが Rap1 を強く活性化し、アダプター分子や LFA1 自身を細胞接着面に輸送する現象を発見し、報告しました [Kondo *et al.* (2021) *Sci. Signal.* **14** (686) eabf2184]。この発見により高親和性型 LFA1 の働きについての理解は進みましたが、その一方で大部分を占める低親和性型 LFA1*4の機能的意義については不明でした。

<本研究の概要>

今回、近藤講師らは超解像顕微鏡 Dragonfly*5と β 2鎖のC端に SNAP-tag*6を融合させた LFA1 を発現するリンパ球を用いて、LFA1 が細胞接着依存的に多様な大きさの細胞内クラスターを形成し細胞内を動き回ることを見出しました。また、そのクラスターのうち小さいものには小胞輸送因子 Rab8 が局在し、Rab8 の欠損により LFA1 の細胞接着面への輸送とリンパ球の ICAM1 に対する細胞接着性が低下しました。Rab8 の活性化は LFA1 の輸送に重要であり、グアニンヌクレオチド交換因子*7の一つである Rabin8 を介して、低親和性型 LFA1 から誘導される outside-in シグナル*8依存的に Rab8 の活性化が起きました。LFA1-ICAM1 結合の一分子計測実験系を用いて Rab8 の欠損の影響を調べたところ、Rab8 は LFA1 の affinity には影響を与えず avidity に特異的に機能しました。加えて、この機能は Rap1 に依存しないことも明らかになりました。以上の結果から、低親和性型 LFA1 もシグナル伝達経路を活性化し、興味深いことにこの経路は Rap1 非依存的に Rabin8-Rab8 経路を介して LFA1 の細胞接着面での avidity を特異的に制御することが明らかになりました。

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (林・佐脇)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

<本研究の成果>

本研究により、これまで知られていなかった低親和性型インテグリンが誘導するシグナル伝達経路の存在が解明されました。またこの経路は大部分のコンフォメーションを占める低親和性型 LFA1 に誘導され、avidity のみに作用することから、LFA1 依存的細胞接着の初期段階で機能する可能性が高いと考えられたため、本研究では Rabin8-Rab8 経路の活性化から開始する新規インテグリン活性化モデルを提案しました(図1)。この発見により、免疫関連疾患を対象とする低親和性型インテグリン特異的な新規薬剤の開発や、avidity の上昇を特異的に促し細胞接着の頻度を上昇させることによる細胞免疫療法の改良等に繋がることが期待されます。

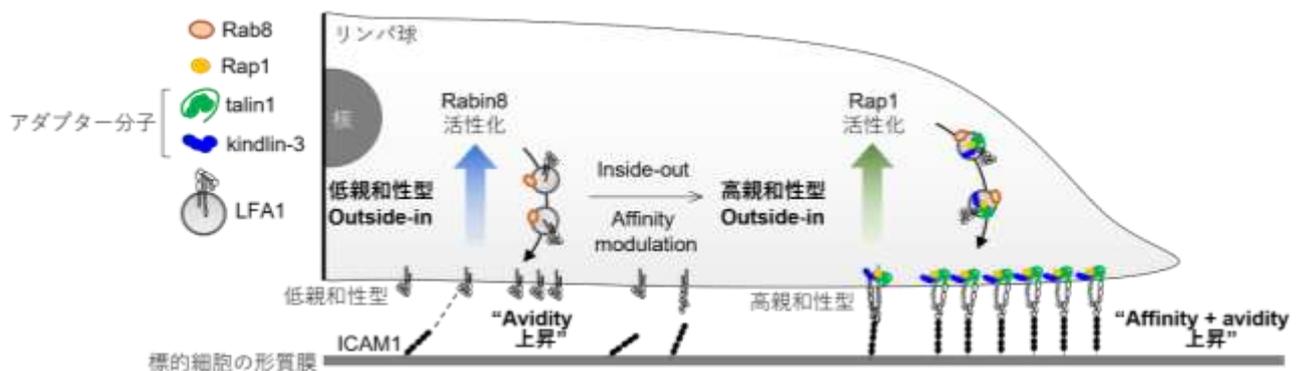


図1. 低親和性型 LFA1 依存的 outside-in シグナルが始動する新規 LFA1 活性化モデル

用語解説

* 1 アダプター分子

LFA1 の $\beta 2$ 鎖の細胞内領域に直接結合することにより LFA1 のコンフォメーション (分子の立体構造) 変化を誘導する分子であり、talin1 や kindlin-3 等が代表的なものである。Talin1 についてはアクチン骨格と LFA1 を繋ぐ役割も担っている。

* 2 結合キネティクス

分子間の結合と解離の反応速度。

* 3 高親和性型 LFA1

LFA1 の細胞外領域が伸展し αL 鎖 - $\beta 2$ 鎖間が開いたコンフォメーションを持つ LFA1 の活性型構造。

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (林・佐脇)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

PRESS RELEASE



* 4 低親和性型 LFA1

LFA1 の細胞外領域が屈曲し α L 鎖- β 2 鎖間が閉じたコンフォメーションを持つ LFA1 の不活性型構造。他のインテグリンでの研究ではこの構造が全体の構造状態の約99%を占めることが知られている。

* 5 超解像顕微鏡 Dragonfly

高感度で高速に細胞内の分子動態を観測することができるスピニングディスク型共焦点レーザー顕微鏡である。Super-Resolution Radial Fluctuation (SRRF)-Stream モジュールを使用することで、光学顕微鏡の空間分解能の限界(約200nm)を超え、空間分解能約70nm程度までの超解像イメージングが可能になる。

* 6 SNAP-tag

O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase の改変体タンパク質で、ベンジルグアニン誘導体を特異的に認識し、SNAP-tag 内の活性中心にあるチオール基と共有結合する。ベンジルグアニン誘導体に任意の蛍光標識物質を付加し細胞内に取り込ませることで、目的のタンパク質に融合させた SNAP-tag を介して、目的のタンパク質を共有結合的に任意の色素で生きた細胞内で蛍光標識することができる。

* 7 グアニンヌクレオチド交換因子

Rap1 や Rab8 などの低分子量 G タンパク質は一般的に不活性型である GDP 結合型と活性型である GTP 結合型の平衡で下流のシグナル伝達の制御を担う。グアニンヌクレオチド交換因子は GDP 型を GTP 型に変換する酵素であり、各種低分子量 G タンパク質毎に特異的性の高いものが存在する。

* 8 outside-in シグナル

ICAM1 の結合または LFA1 の特定の領域を認識するモノクローナル抗体によって導入されるシグナル。

<本件研究に関するお問合せ先>

学校法人関西医科大学

附属生命医学研究所 分子遺伝学部門 講師

近藤 直幸

大阪府枚方市新町 2-5-1

TEL : 072-804-0101

E-mail : kondonao@hirakata.kmu.ac.jp

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (林・佐脇)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話 : 072-804-2128 ファクス : 072-804-2638 メール : kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp