ミニレビュー

ジアシルグリセロールキナーゼ
アイソザイムの多様な構造

坂根郁夫

ジアシルグリセロール (DG) は、さまざまなホルモン、神経伝達物質、成長因子などによる細胞刺激時にホスファチジルイノシトール (PI) や他のリン脂質の加水分解によって生じる。DG はプロテインキナーゼC (PKC) の活性化因子であることから、ジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) は DG を代謝することによって PKC 活性を減弱すると考えられている。さらに、反応産物のホスファチジン酸 (PA) も *ras*-GTPase 活性化蛋白、PKC などの種々のシグナル伝達に關与する酵素の活性を調節することが報告されている。したがって、DGK は DG と PA という二つの脂質性二次メッセンジャーの動態を制御する酵素として生理的に重要な役割を担っていると考えられている。実際に、DGK はインターロイキン 2 刺激による T リンパ球の増殖に關与していること、また、ショウジョウバエの網膜変性突然変異の原因遺伝子産物であることなどが報告されている¹⁾。

1990年に DGK (α) の cDNA クローニングに初めて成功して以来、たがいに相同性がきわめて高い 2 種の DGK 分子 (β, γ) のみがクローン化されてきた。ところが 1996 年に入って、基本構造が大きく異なる 5 種のアイソザイム ($\delta - \theta$) が存在し、それぞれが興味ある機能ドメインを持っていることが次々と明らかにされた。そこで、本稿では新規アイソザイムの構造を中心に、DGK に関する最近の知見について解説する。

まず、比較のために I 型 ($\alpha - \gamma$) のアイソザイムの構造について触れる。最初にブタ胸腺 cDNA ライブラリより DGK α (分子量 83 k) がクローン化され、分子内に 2 個の EF ハンドと 2 個の亜鉛フィンガー構造を持っていることが明らかになった²⁾ (図 1)。DGK α は胸腺、脾臓、

T リンパ球で多く発現しており、脳ではオリゴデンドログリア細胞で発現していた。次に、³²P 標識した DGK α cDNA をプローブにしたスクリーニングによりラット DGK β (分子量 90 k) がクローン化された³⁾。DGK β は脳の線条体ニューロンに強く発現し、リンパ系の組織には認められなかった。続いて、DGK γ (分子量 89 k) がクローン化されたが、その発現は網膜に最も多く、脳では小脳のプルキンエ細胞に多く発現していた⁴⁾。このようにこれらのアイソザイムは一次構造はよく似ていたが、その組織分布は大きく異なっていた。また最近、⁴⁵Ca²⁺ 結合実験などにより、I 型のアイソザイム間で Ca²⁺ に対する親和性が異なっていることが明らかになった⁵⁾。すなわち、DGK α は約 1 μ M の Ca²⁺ で活性化されるのに対して、 β は約 10 nM、 γ は 10 nM 以下 (実質的には Ca²⁺ 非依存性であると考えられる) の非常に低濃度の Ca²⁺ で活性化された。また後述するように、最近 EF ハンドを持たず Ca²⁺ に依存性のないアイソザイムが続々と発見されていることは、逆に EF ハンドを持つ I 型酵素の特殊性を浮き彫りにしている。亜鉛フィンガーに関しては同様の構造が PKC などにも存在し、ホルボールエステル/DG 結合部位として知られている。しかし、I 型 DGK のホルボールエステル結合活性は検出されなかった。さらに亜鉛フィンガーを欠失させた酵素を用いた実験により、同構造は触媒領域に含まれない (少なくとも触媒

図 1 哺乳動物 DGK アイソザイムの構造模式図
略号については本文参照のこと。

反応時の DG 結合部位として機能しない) ことが示された⁶⁾。

I 型とは異なるアイソザイムとして最初に報告されたのが DGK δ (分子量 130 k) である⁷⁾。一次構造上の変異興味深い特徴は、N 末端にプレクストリンホモロジー (PH) ドメインを持っていることである (図 1)。当初 PH ドメインは血小板の主要な PKC の基質であるプレクストリンに存在する繰返し構造として報告されたが、現在では細胞刺激伝達系に関与する数十種類の蛋白質 (RAC プロテインキナーゼや PKC μ など) に見いだされている。PH ドメインは G 蛋白質 $\beta\gamma$ サブユニット、PKC、PI ニリン酸との相互作用部位である可能性が報告されている。さらに、DGK δ の C 末端は EPH チロシンキナーゼレセプターファミリーの C 末端 (触媒部位は含まず) と高い相同性を示した。EPH ファミリーは発生段階における神経軸索の伸長方向や接続位置を決定する際に重要な働きをしていることが明らかになってきている。EPH ファミリー以外でこの C 末端領域を持つ蛋白質は DGK δ が最初の報告である。DGK δ は EF ハンドを持たず、触媒領域のほぼ中間に約 300 アミノ酸の挿入がある点でも I 型とは大きく構造が異なっている。この挿入配列は多くの Glu と Ser を含んでいた。骨格筋と精巣に多く発現していた。

DGK ϵ (分子量 64 k) は最も単純な構造を持ち III 型に分類される⁸⁾。ただし、これまでにクローン化されたアイソザイムの中では唯一のアラキドノイル型 DG 特異的な酵素である。2 位のアラキドン酸は主にイノシトールリン脂質由来の DG に含まれており、このアイソザイムはもっぱら PI 代謝回転により生ずる DG をリン酸化するのであろう。精巣に特異的に発現している。

IV 型に分類される DGK ζ (分子量 104 k) は面白いことに C 末端にアンキリンリピート (4 個) を持っており、先にクローン化されたショウジョウバエの DGK2 (網膜変性突然変異の原因遺伝子産物) によく似た構造を持っていた⁹⁾。アンキリンリピートは NF- κ B などの転写因子にも認められ、蛋白質-蛋白質相互作用部位と考えられている。また、触媒領域のすぐ N 末側に MARCKS (myristoylated, alanine-rich C-kinase substrate) のリン酸化部位によ

く似た配列が存在する。脳、胸腺に多く発現していた。細胞内では主に核に局在するという。

DGK η (分子量 127 k) は DGK δ と非常によく似た構造をしており、II 型に分類される¹⁰⁾。ただし、C 末端に EPH レセプターとの相同領域は持たない。また、組織分布も異なり、精巣、肺、脳などに多く発現する。特筆すべきことは、このアイソザイムの発現が糖質コルチコイドで誘導されることである。

DGK θ (分子量 101 k) は遺伝子データベースに登録されているが、まだ学術誌には発表されていない (本稿では便宜上 DGK θ と命名した)。したがって、その性質は明らかではない。構造的な特徴は、亜鉛フィンガーを 3 個持つこととほぼ中央に RA (Ras-associating) ドメインを持つことである。

このように、DGK は少なくとも五つのサブファミリーから構成される大きな遺伝子ファミリーを形成していることが明らかになった。また、これらはそれぞれ特徴的な機能ドメインを持っていた。このことは、生体が想像以上に多種類の異なる制御下に置かれた DGK 分子をさまざまな場・状況で使い分けていることを示している。今後各アイソザイムの連関するシグナル伝達系や分担する生理機能が解明されることが望まれる。

Key Words : diacylglycerol kinase, phosphatidic acid, calcium-45 (2+) ion, pleckstrin homology domain, zinc finger

文 献

- 1) 坂根郁夫: 生化学, **69**, 印刷中
- 2) Sakane, F., Yamada, K. et al.: *Nature*, **344**, 345-348 (1990)
- 3) Goto, K. and Kondo, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 7598-7602 (1993)
- 4) Kai, M., Sakane, F. et al.: *J. Biol. Chem.*, **269**, 18492-18498 (1994)
- 5) Yamada, K., Sakane, F. et al.: *Biochem. J.*, **321**, 59-64 (1997)
- 6) Sakane, F., Kai, M. et al.: *ibid.*, **318**, 583-590 (1996)
- 7) Sakane, F., Imai, S. et al.: *J. Biol. Chem.*, **271**, 8394-8401 (1996)
- 8) Tang, W., Bunting, M. et al.: *ibid.*, **271**, 10237-10241 (1996)
- 9) Bunting, M., Tang, W. et al.: *ibid.*, **271**, 10230-10236 (1996)
- 10) Klauck, T. M., Xu, X. et al.: *ibid.*, **271**, 19781-19788 (1996)

(札幌医科大学医学部生化学第 2 講座)