

研究題目 細胞膜におけるリン脂質の非対称分布とその崩壊

研究組織

研究代表者：長田 重一（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：櫻木 崇晴（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

動物の細胞膜は脂質二重層から成り立っているが、それを構成するリン脂質は外膜と内膜で非対称的に分布している。この非対称的分布は、アポトーシスを起こした細胞や、活性化された血小板等において崩壊する。私達は細胞膜の非対称性の維持、崩壊に関与する3種類の膜タンパク質を世界に先駆けて同定した。本研究はこれら分子の作用機構を明らかにすることを目的としている。

[1-2] 研究の方法・経過

XKR family に属する膜タンパク質(XKR4, XKR8 および XKR9)はアポトーシス時にカスパーゼによって活性化され、スクランブラーゼとして作用する (Suzuki et al. Science 2013, J.Biol. Chem. 2014)。一方、マウス Ba/F3 細胞でマウス XKR8 や XKR9 を発現させるとカスパーゼ刺激によらない活性化が認められる。この活性化はキナーゼの阻害剤で抑制されることから、XKR8 や XKR9 のスクランブラーゼ活性はリン酸化によって制御される可能性が考えられた。2019 年度の本共同研究においてマウス XKR8 の C-末端領域に存在する3個の Threonine/Serine 残基がリン酸化されることを見出した。一方、最近 XKR9 の細胞質領域に存在する12個の Ser, Thr, Tyr 残基に変異を導入、2個の残基がリン酸化されることを見出した。そこで本研究は、XKR8 や XKR9 のリン酸化がタンパク質への構造、活性へ及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

2022 年に私達が決定した XKR8 の構造によると XKR8 の底部、細胞質側には窪みが存在し、その窪みに C-末端部位が疎水結合、イオン結合などにより結合している。構造をもとに、これらの結合に関与しているアミノ酸に変異を導入すると XKR8 の scramblase 活性は顕著に増大した。このことは XKR8 の C-末端部位が Plug として分子の底面に結合、分子の機能を制御していることを示唆している。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

スクランブラーゼやフリッパーゼは両親媒性を持つリン脂質を疎水性の脂質二重層からなる細胞膜上で反転させるトランスポーターであり、その分子機構はこれまで全く不明であった。これまでに私達は XKR8 の分子表面にリン脂質の入り口と考えられる疎水性の溝と分子内に親水性の洞窟を同定した。今回、XKR8 のリン酸化部位の同定からその C-末端部位が活性制御に重要な役割を担うことが示された。今回樹立した XKR8 の構成的活性型は活性型 XKR8 の三次構造を明らかにするうえで有用であろう。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1. Sakuragi, T., Kanai, R., Tsutsumi, A., Narita, H., Onishi, E., Nishino, K., Miyazaki, T., Baba, T., Kosako, H., Nakagawa, A., Kikkawa, M., Toyoshima, C., and Nagata, S.: The tertiary structure of the human Xkr8-Basigin complex that scrambles phospholipids at plasma

membranes. **Nat. Struct. Mol. Biol.** 28: 825-834, 2021

2. Segawa, K., Kikuchi, A., Noji, T., Sugiura, Y., Hiraga, K., Suzuki, C., Haginoya, K., Kobayashi, Y., Matsunaga, M., Ochiai, Y., Yamada, K., Nishimura, T., Iwasawa, S., Shoji, W., Sugihara, F., Nishino, K., Kosako, H., Ikawa, M., Uchiyama, Y., Suematsu, M., Ishikita, H., Kure, S., and Nagata, S.: A sublethal ATP11A mutation associated with neurological deterioration causes aberrant phosphatidylcholine flipping in plasma membranes. **J. Clin. Invest.** 131: e148005, 2021
3. Nagata, S. and Sakuragi, T.: Regulation of phospholipid distribution in the lipid bilayer by flippases and scramblases. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.** 24: 576-596, 2023
4. Sakuragi, T., Kanai, R., Otani, M., Kikkawa, M., Toyoshima, C., and Nagata, S.: The role of the C-terminal tail region as a plug to regulate XKR8 lipid scramblase. **J. Biol. Chem.** 300, 105755, 2024

[3-2] 学会発表

1. 櫻木崇晴, 金井隆太, 包明久, 成田宏隆, 大西映里子, 西野耕平, 宮崎拓也, 馬場威, 小迫英尊, 中川敦史, 吉川雅英, 豊島近, 長田重一: 「細胞膜リン脂質スクランブラーゼであるヒト XKR8-Basigin 複合体の立体構造」第 44 回日本分子生物学会年会、口頭発表 横浜 (令和 3 年 12 月 2 日)
2. 櫻木崇晴、長田重一: 「細胞膜リン脂質スクランブラーゼ XKR8-Basigin 複合体の構造解析」、第 95 回日本生化学会大会 シンポジウム招待講演 名古屋 (令和 4 年 11 月 9 日)
3. Shigekazu Nagata “Regulation of phospholipid distribution by flippase and scramblase” The 3rd Japan and Australia Meeting on Cell Death 2023, **Special Lecture** Melbourne, Australia (令和 5 年 8 月 17 日)
4. Shigekazu Nagata “Regulation of phospholipid distribution in the lipid bilayer by flippases and scramblases” The 18th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences 東京医科歯科大学 シンポジウム招待講演 東京 (令和 5 年 10 月 5 日)

【4】今後の課題等

今後はどのような生理条件下でこれら分子がリン酸化によって活性化されるか示す必要がある。その目的のためには、これら分子をリン酸化するキナーゼの同定が必須であろう。