

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-180	20-204	元高崎健康福祉大学 八田慎一
題名(原題/訳)		
Residues in transmembrane segments of the P2X4 receptor contribute to channel function and ethanol sensitivity. P2X4 受容体の膜貫通領域残基がチャネル機能とエタノール感受性に関与している		
執筆者		
Popova M, Rodriguez L, Trudell JR, Nguyen S, Bloomfield M, Davies DL, Asatryan L.		
掲載誌		
Int J Mol Sci. 2020; 21(7):2471. doi: 10.3390/ijms21072471.		
キーワード		PMID:
エタノール感受性、プリン作動性 P2X4 受容体、膜貫通領域、突然変異		32252459
要旨		
<p>目的: アルコール乱用とアルコール使用障害(AUD)は、効果的な治療法や防止策を欠くことから、健康や経済での重大な懸案のままになっている。薬物治療の進展の為には、中枢神経系(CNS)におけるエタノール作用の標的部位とその機序について理解する必要がある。CNS で豊富に発現しているプリン作動性 P2X4 受容体(P2X4R)にエタノールが作用することが示唆されている。P2X4R は中脳辺縁系と中脳皮質系での報酬回路に存在している。P2X 受容体は、細胞膜を2回貫通(膜貫通領域 TM1 および TM2)するサブユニット3分子がホモあるいはヘテロ三量体を形成し、イオンチャネルを形成している。先に我々は、膜貫通細胞外領域残基と TM1 内残基が P2X4R に対するエタノール作用部位であることを報告した。P2X4R の機能とエタノール感受性に影響する複数の TM1 および TM2 残基が想定されることから、本研究はこの点を検証した。</p> <p>方法: アフリカツメガエル卵母細胞(XLO)にラット P2X4R(WT)あるいは部位特異的変異導入 P2X4R を発現して実験に用いた。チャネル機能は、ホールセル電位クランプ法で解析した。エタノールは XLO に 10-100 mM を処置(<i>in vitro</i>)した。P2X4R のイオンチャネルとしての解放/閉鎖状態の立体(三次)構造は、ホモロジーモデリング[構造予測を行うタンパク質のアミノ酸配列から、立体構造データベースを基に立体構造を予測する]から解析した。細胞表面の受容体の解析は、ビオチンラベル化と免疫プロット法で行った。</p> <p>結果: XLO の ATP 依存性電流のエタノールによる抑制効果から、TM1 領域 33 部位のアルギニン(R33)が P2X4R のエタノール感受性に影響することが示された。また、イオンチャネル解放/閉鎖状態の立体構造モデルから、R33 と TM2 領域近傍 354 部位のアスパラギン酸(D354)との間の相互作用が認められた。WT と相互変異受容体の混合(R33D:WT あるいは D354R:WT)でエタノール感受性は消失した。一方、二重変異受容体(R33D-D354R)と WT との混合では、WT と同様のエタノール感受性が示され、R33D と D354R 変異受容体は WT-P2X4R とヘテロ三量体を構成し、機能的チャネルを形成することを示唆している。さらに、TM1 の 49 部位のバリンがチャネル解放時の柔軟性/安定性をもたらし、P2X4R 機能に関与していることが示された。</p> <p>結論: 本研究は、エタノールの新たな作用部位として TM1 領域残基を同定し、P2X4R の機能とエタノール感受性に対する TM1(R33)-TM2(D354)相互作用の重要性を示唆した。P2X4R に対するエタノールの作用で重要な残基を明らかにすることは、AUD 治療薬物の開発を進める新たな情報を提供するものである。</p>		