

インテグリン研究の生い立ちと現状

林 正男・宮本泰則

本稿は、インテグリンのことをまったく知らない大学院生や研究者に、“インテグリンとはこんなもの”とわかってもらうための解説である。インテグリンは、一言でいえば、動物の細胞接着分子（フィブロネクチンやオステオポンチンなど約20種類の細胞接着分子が知られている）の動物細胞膜レセプター蛋白質である。細胞接着分子がインテグリンに結合すると、細胞内のシグナリング系が動き出し、その結果、細胞接着だけでなく、細胞伸展、細胞増殖、アポトーシス、分化、細胞骨格配向、細胞移動、組織形態形成、がん転移、創傷治癒、血液凝固などが稼動する。

Key words 【細胞接着】【インテグリン】【フィブロネクチン】

はじめに ハヤシの研究室で大学院時代に細胞接着分子の研究を行なった女性研究者から、最近、次のようなお手紙をいただいた。

「このところの細胞外マトリックスの研究の流れは、インテグリンから細胞内の情報伝達あたりに偏った仕事ばかりが目立っているように思います。細胞外の高分子の挙動やそれら分子間の相互作用といった、生命現象を理解するために本来重要な研究がもっと活発になってほしい、とかねがね思っていました…」

そ、そうなのである。このところ、世間では「インテグリンから細胞内の情報伝達あたりに偏った仕事ばかりが目立っている」のである。そういう英文総説（論文の間違いではない）が毎年50報以上出版されているご時世なのである。

そんなにたくさんの総説が出ているといっても、英文だし、そこそこの予備知識がないと、ヤッパシ、“インテグリン”はわからない。んで「インテグリン専門外の読者のために、ハヤシに解説を」となったらしい、

というわけである。

インテグリンの“このところの研究の流れ”のほうはショートレビューを読んでいただくことにして、本稿では、インテグリンを専門としない読者のために、インテグリンの“このところの研究”に至るまでの短い「解説」をしたためた。

なお、“インテグリン”に興味のない方にも楽しんでいただけるような工夫もした。“ハヤシの第三法則”(!?)である。「最新技術を導入しなければ、バイオ研究に新局面は開けない」というバイオ研究における法則である。この法則に沿って話を進めたので、その実例を楽しんでいただきたい。

I. インテグリンの前にフィブロネクチンの話を聞いてネ

1. フィブロネクチンの発見

インテグリンの話をする前に、もう1つ別の蛋白質フィブロネクチン (fibronectin) について語らないと

話が始まらない²⁾。恋は1人で語れない。つまり、フィブロネクチンの恋人の1人がインテグリンというわけだ。そして、インテグリンにとっては、フィブロネクチンが初恋の人だった。

1973年、アメリカでフィブロネクチンが発見された。当時の最新技術である細胞表面標識法、つまり、動物細胞表面の蛋白質や糖をアイソトープで標識する技術が導入されたことが大きい。フィブロネクチンは、動物培養細胞の細胞表面に線維状に会合し、膜に組み込まれていない糖蛋白質、しかも細胞の癌化に伴って消えてしまう糖蛋白質、として発見された。

細胞の癌化に伴う変化のため、癌細胞の性質を解明する重要な“キーポイント”ではないかと大きく期待された。若い人はご存知ないだろうが…こういう言い方ってなんかイヤミな言い方ですネ。要するにハヤシも歳を取りました…、当時、細胞生物学、生化学、分子生物学にとっても大きなインパクトを与えたのである。

2. 最初に発見された細胞接着分子

細胞表面のフィブロネクチンが発見されて間もなく、フィブロネクチンは動物血漿中にもそこそこの濃度(約0.3 mg/ml)で存在することがわかってきた。さらに、フィブロネクチンはコラーゲン、ヘパリン(ヘパラン硫酸プロテオグリカンの代用)、フィブリンなどと結合すること…つまり細胞外マトリックスを構成すること…、そして、動物培養細胞の細胞接着を担うことも発見された。

カドヘリン、ピトロネクチン、ラミニン、オステオポンチン、セレクチンなどを含め、当時、細胞接着分子はまだ1つも発見されていなかった。細胞接着が特異的な蛋白質に担われているという概念すら十分に発達していなかった。

フィブロネクチンが細胞接着活性を示したことから、フィブロネクチンは細胞接着性糖蛋白質とよばれた。以後、“細胞接着”研究の方向が、細胞接着を担う分子の探索、そして、その分子性状の解析へと向かっていったのである。事実、その後、新しい細胞接着分子が続々と発見された。その中であって、フィブロネクチンは、“細胞接着”研究の先頭を長い間走りつづけたのである。

3. フィブロネクチンレセプターを探せ!

フィブロネクチンは、分子量240 Kのサブユニット

が2個(場合によっては多数)、ジスルフィド結合している。分子量約480 K(場合によってはそれ以上)の巨大分子である。フィブロネクチン発見から9年経った1982年ころ、ハヤシはアメリカ・NIHにいた。そのころ、アメリカではフィブロネクチンの研究が爆発的に展開しているのに、日本でフィブロネクチンを研究している人は2~3人しかいなかった。

アメリカにいたハヤシは、「フィブロネクチンの細胞表面レセプターがあるはずで、それをぜひつかまえない」と思っていた。ところが、周囲の研究者にフィブロネクチンレセプターのアイデアを話しても、“バカな”と笑われたただけであった。当時、多くのフィブロネクチン研究者は、「巨大な蛋白質やプロテオグリカンが非特異的に細胞表面にベターとくっついて細胞は接着する」、と何となく思っていた。つまり、「動物細胞表面に、フィブロネクチンの特異的レセプターはない」と思われていたのである。

状況は2~3年で激変した。

II. インテグリンっていったい何なの?: 発見と命名

1. 細胞接着部位はたった4つのアミノ酸RGDS

1984年、1つの大きな発見があった。アメリカのラホヤ癌研究所(現在のバーナム研究所・ラホヤ癌研究センター)のRuoslahtiが、「フィブロネクチンの細胞接着部位はたった4つのアミノ酸Arg-Gly-Asp-Ser(RGDS)に担われている」、という驚くべき結果を発表したのである³⁾。

ここにも当時の最新技術であるペプチド化学合成法が導入されている。つまり、この発見は、生物医学研究に化学合成したペプチドを使うというハヤシ、じゃなくてハシリの研究だった。

翌1985年、動物細胞膜蛋白質を可溶化し、フィブロネクチン親和性カラムに結合させ、RGDSペプチドで溶出するという大胆な(当時とても高価な)手法で、Ruoslahtiは、フィブロネクチンの細胞表面レセプター(分子量140 K)を精製したのである⁴⁾。

2. Hynesがインテグリンと命名。面白くないのはRuoslahti

1980年代前半、モノクローナル抗体作製と組換えDNA技術は最新技術であった。この2つの最新技術が

“細胞接着”の研究にも導入された。

まず、精製したとはとてもいえない細胞膜蛋白質を抗原に、フィブロネクチンへの細胞接着を阻害するモノクローナル抗体 (JG22 や CSAT という名称) がつくられた。1985 年、このモノクローナル抗体を使って、アメリカ・NIH の Yamada が、ニワトリ線維芽細胞表面にある抗原蛋白質 (つまり、フィブロネクチンレセプター) を単離した⁵⁾。

一方、1986 年、アメリカ・マサチューセッツ工科大学の Hynes は、その抗原蛋白質の cDNA クローニングを世界で最初に行なった。つまり、フィブロネクチンレセプターのアミノ酸配列と塩基配列を世界で最初に決定したのである⁶⁾。

細胞の外にあるフィブロネクチンは、フィブロネクチンレセプターを介して細胞に結合し、情報を細胞内に伝え、細胞内のアクチン線維の配向、ひいては遺伝子発現の調節をする (と期待された)。となると、フィブロネクチンレセプターはこの道筋の中の、細胞外と細胞内を integrate する (統合する、まとめる) 蛋白質に違いない、と Hynes は考え、フィブロネクチンレセプターをインテグリン (integrin) と命名したのである⁶⁾。

面白くないのは Ruoslahti である。フィブロネクチンレセプターという“モノ”を明確にしかも大量に単離したのに、Hynes が勝手に (!?) 命名してしまった。国際会議で、Ruoslahti と Hynes が丁々発止のやり取りをしたのを目撃したのは、ハヤシだけではなかっただろう。しかし、ほとんどのフィブロネクチン研究者は、インテグリンという名称をすぐに受け入れた。

3. インテグリンが続々と発見

インテグリンはフィブロネクチンレセプター分子として命名されたものの、細胞外マトリックス分子のレセプターの cDNA 塩基配列がどんどん解明されてくると、それらは、フィブロネクチンレセプター分子と類似の配列をもっていることがわかり、まとめて、インテグリンとよぶようになった。となると、これらいくつかのインテグリンを分類する必要が生じたのである。

それで、インテグリンの α サブユニットと β サブユニット…言い忘れたけど、インテグリンは α と β のヘテロダイマー…に、それぞれ“下付き”の数字や記号をつけて分類するようになった。たとえば、Ruoslahti が、実質上世界で最初に単離したフィブロネクチンレ

セプターはインテグリン $\alpha_5\beta_1$ であり、2 番目に単離したビトロネクチンレセプターはインテグリン $\alpha_v\beta_3$ である (α_v の v は vitronectin の v)。

4. 考えもしなかった蛋白質までインテグリンの仲間入り

インテグリンと同定された分子のなかには、“細胞外マトリックス分子のレセプター”とは別の分野で研究されていた蛋白質もある。たとえば、免疫学というまったくの異分野で、リンパ球細胞表面に VLA (very late antigen) シリーズや CD (cluster of differentiation) シリーズの一連の抗原が発見されていた。それらの cDNA 塩基配列を解明してみると、実は、インテグリンであったのだ⁷⁾。

また、血小板の細胞表面にあって、血小板凝集に機能する GPIIb/IIIa (glycoprotein IIb と同 IIIa) もインテグリンであった⁸⁾。というわけで、インテグリンの研究領域は吸収合併をくり返し、その後、どんどんと巨大化していったのである⁹⁾。

5. インテグリンの論文は1997年に1884報

インテグリンの研究領域が巨大化していったことをデータで示そう。インテグリンの論文数をコンピュータで検索すると、図1のようになる。インテグリンと命名された年の1986年に、論文は2報出ている。もちろん、1985年以前は0報である。そして、1988年に55報出で以来、1996年までの9年間はきれいな $y=ax+b$ の式に乗っている。つまり、毎年226報上積みされて論文が発表されつづけたことになる。ただし、1997年になって、突如、論文数が飽和点に達したかに見える。さて、1998年や1999年はどうなっていくのであろう？

6. インテグリンがノーベル賞をもらう日

1998年秋にノーベル医学生理学賞に輝いた“nitric oxide”の論文数は、1997年に5012報発表されている。

インテグリンの論文が図1のように毎年226報上積みのペースで直線的に増加すると仮定して、1998年ノーベル医学生理学賞に輝いた“nitric oxide”の論文数5012報に達するのは、いつだろうか？ 上記の単純な式を使うと、 $5012=226(x-1988)+55$ 、になるから、 $x=2010$ 。つまり、あと約10年後の2010年にインテグリンの論文数がノーベル賞級になって、“インテグリン

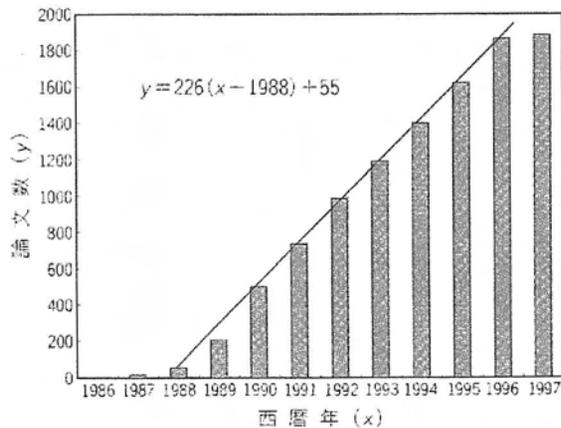


図1 インテグリン (integrin) 論文の件数
データベース Medline を用いて、Advanced Boolean Search という方法で、毎年の "integrin" 論文数を調べた。

研究にノーベル賞”ということになる…かも (?) しれない。

III. インテグリンの種類, 生理機能, 関連疾患

1. インテグリンは少なくとも22種類

インテグリン分子は $\alpha\beta$ のヘテロダイマーからなり、 $\alpha\beta$ とともに膜を貫通している蛋白質である。アミノ酸配列の類似性から、 α が16種類、 β が8種類知られている。それなら、 $16 \times 8 = 128$ 、つまり128種類のインテグリンがあるかという、現実には22種類しか知られていない。たぶん、実際はもっとあるだろう。もしその気なら、23番目とか50番目とか100番目とかのインテグリン発見者に、あなたがなれるかもしれない。

インテグリン分子の構造上の知見に関しては、現在どのインテグリンの $\alpha\beta$ も、アミノ酸配列や塩基配列は既知である。細胞外ドメインにある細胞接着分子との結合部位、細胞内ドメインにあるシグナリング系蛋白質との結合部位、リン酸化を受ける部位も、特定のインテグリン分子については解明されている。これらのよく研究された特定のインテグリン分子の知見から、一般的には、本号の傳田氏のショートレビューにある図1のようなモデル図が描かれる（重複するのでここでは描きません）。

2. インテグリンを各論として攻める

インテグリン分子の動態や生理機能を理解するには、

現在知られている22種類のインテグリンの1つ1つを各論として研究するしかない。

インテグリン分子をすっかり理解するには、各論として研究された全部のインテグリンを解説しなければならぬ。しかし、それはできない相談だ。それで、全22種類のインテグリンについて、その結合する接着分子、生理機能、関連する疾患を表1にまとめてみた。

このうちインテグリン $\alpha_3\beta_1$ とインテグリン $\alpha_1\beta_2$ をとりあげ、以下に少し解説しよう。

3. たとえばインテグリン $\alpha_3\beta_1$ とは?

インテグリン $\alpha_3\beta_1$ (別名: VLA-3) が結合する接着分子は、細胞外マトリックス分子のラミニン-5 (旧名: カリニン, エピリグリン, ニセイン) である¹⁰⁾。インテグリン $\alpha_3\beta_1$ は、皮膚表皮細胞、消化管の上皮細胞、腎臓のメサンギウム細胞に存在している。では、インテグリン $\alpha_3\beta_1$ はそこで何をしているのか? 一般的に、「蛋白質が生体内で何をしているのか?」を解明するのはそう簡単ではない。

ここに、ノックアウトマウス作製という最新技術が導入された。インテグリン α_3 遺伝子を人為的に欠損させたマウスは、発生過程で腎臓や肺にいろいろな異常が生じ、生後1日目に死んでしまう¹¹⁾。このことから、インテグリン $\alpha_3\beta_1$ が腎臓や肺の形成にかかわっていることまではわかった。

問題は、その先である。「どのようにかかわっているのか?」である。しかし、その先に進むには、さらなる最新技術やさらなる新しい概念の導入が必要だろう。

なお、インテグリンの場合、ちょっと特殊な事情が2つある。1つは、たいていの細胞が複数のインテグリンをもっていて、他のインテグリンが代役を果たしてしまう可能性があることだ。もう1つは、インテグリンは多数の接着分子と関係する浮気者、という家庭の事情があるのだ。一般的に、インテグリンと接着分子の関係は1対1ではなく多対多の関係である。そのため、生体内ではインテグリンと接着分子の相互作用が非常に複雑になってしまう。これを打破するための何らかの工夫も必要だろう、と直感的に感じている。

4. インテグリン $\alpha_1\beta_2$ とは?

次に、インテグリン $\alpha_1\beta_2$ (別名: LFA-1, CD11a/CD18) のほうに話を進めていこう。いままでいなか

表1 22種類のインテグリン

インテグリン(別名)	結合する接着分子	生理機能	関連する疾患
$\alpha_1\beta_1$ (VLA-1)	ラミニン-1, コラーゲン	神経突起伸長, リンパ球浸潤	同種移植病
$\alpha_2\beta_1$ (VLA-2)	ラミニン-1, コラーゲン	血小板凝集, 癌の浸潤・転移	心臓血管の疾患(?)
$\alpha_3\beta_1$ (VLA-3)	ラミニン-5	腎臓, 肺の形態形成, 癌の浸潤・転移	糸球体炎
$\alpha_4\beta_1$ (VLA-4)	VCAM-1, FN, MAdCAM-1, TSP	リンパ球, 単球, 好酸球の炎症部位への遊走	気管支炎, 多発性硬化症
$\alpha_5\beta_1$ (VLA-5)	FN	細胞の移動, 細胞増殖, FNマトリックスの形成	炎症性腸疾患
$\alpha_6\beta_1$ (VLA-6)	ラミニン-1, 2, 3, 5	上皮細胞の極性, 神経突起伸長, 癌の浸潤・転移	炎症性腸疾患, ヒルシユスフルング病
$\alpha_7\beta_1$	ラミニン-5	上皮細胞におけるヘミデスモソーム形成	Herlitz型水痘性表皮剥離症
$\alpha_7\beta_1$	ラミニン-1	骨格筋の形成や恒常性の維持	筋ジストロフィー
$\alpha_8\beta_1$	FN, VN, テネイシン-C	腎臓の形態形成, 神経細胞のシナプス形成	報告なし
$\alpha_9\beta_1$	テネイシン-C	気管上皮に発現	報告なし
$\alpha_{11}\beta_3$ (GPIIb/IIIa)	Fbg, FN, vWF, VN	血小板の粘着・凝集, 止血血栓形成	血小板無力症
$\alpha_v\beta_1$	FN, VN	細胞の移動, 癌細胞の基質への接着	報告なし
$\alpha_v\beta_3$	VN, Fbg, vWF, TSP, FN, OPN	創傷治癒, 血管新生, 骨再生など	増殖性糖尿病性網膜症, 手足口病
$\alpha_v\beta_5$	VN	血管新生, 上皮の再構築	増殖性糖尿病性網膜症
$\alpha_v\beta_6$	FN, テネイシン-C	上皮の形成, 創傷治癒	コクサッキーウイルス感染症
$\alpha_v\beta_8$	VN, ラミニン-1, コラーゲン	神経突起伸長	報告なし
$\alpha_L\beta_2$ (CD11a/CD18, LFA-1)	ICAM-1	白血球の接着・走化性に関与, 免疫寛容の誘導	白血球粘着不全症
$\alpha_M\beta_2$ (CD11b/CD18, Mac-1)	Fbg, ICAM-1	好中球/単球と血管内皮との接着	敗血症, 動脈硬化, バセドウ病
$\alpha_X\beta_2$ (CD11c/CD18, p150, 95)	Fbg	単球/顆粒球と血管内皮との接着	白血球粘着不全症
$\alpha_V\beta_2$	ICAM-1	動脈壁の泡沫細胞の機能との関連	動脈硬化
$\alpha_1\beta_7$	MAdCAM-1, VCAM-1	リンパ球のホーミング現象	炎症性腸疾患
$\alpha_4\beta_7$	E-カドヘリン	リンパ球のホーミング現象	クローン病

FN: フィブロネクチン, VN: ビトロネクチン, TSP: トロンボスポンジン, OPN: オステオポンチン, Fbg: フィブリノーゲン, vWF: フォンビルブランド因子, VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1, ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1, MAdCAM-1: mucosal addressin cell adhesion molecule-1.

ったけど、インテグリンのなかには、細胞外マトリックス分子のレセプターではなく、細胞どうしの接着を担うものもある。その1つがインテグリン $\alpha_L\beta_2$ である。インテグリン $\alpha_L\beta_2$ は、血管内皮細胞表面のICAM-1という免疫グロブリンに似た蛋白質に結合する¹²⁾。白血球は、このインテグリン $\alpha_L\beta_2$ を使って血管内皮細胞に接着し、この接着によって、白血球のホーミング現象(白血球が特定のリンパ組織に戻ってくる現象)が達成されるのである。

別の話であるが、抗インテグリン $\alpha_L\beta_2$ 抗体によってT細胞の活性化が阻害され、免疫寛容が誘導される¹³⁾。というわけで、インテグリン $\alpha_L\beta_2$ をうまく操作すれば、臓器移植時の拒絶反応を軽減できるのではないかと期待されている。

5. 後続のインテグリン $\alpha_8\beta_1$ とインテグリン $\alpha_v\beta_3$ は“勢い”で読んでネ

アッという間に誌面がつきってしまったが、インテグリン非専門家の皆さんを、“インテグリン村の外観と入口”が見えるところまでお連れしたので、この辺で、ハヤシとミヤモトは、肩の荷をおろさせてもらいたい。

なお、あとに続く傳田氏のショートレビューではインテグリン $\alpha_8\beta_1$ が、植村氏のショートレビューではインテグリン $\alpha_v\beta_3$ が扱われている。ここまできたからには、インテグリン非専門家の方も“勢い”で読んでみたらどうだろう。

おわりに “インテグリン”は1986年に命名されたの

で、1999年現在ではまだ13年の歴史しかない。この13年間の“インテグリン”の研究をふり返ってみると、アメリカにいた日本人研究者の貢献は大きいものの、はっきり言って、日本が完敗した歴史である。“ハヤシの才能や努力が足りなかった”かもしれないが、コトはそういう個人レベルの話ではない。

日本には、新しい研究分野、それも動きの早い研究分野、そういうダイナミズムに対応していく思想、システム、指導者が、“バイオ”にはいなかったからである。これらのことは、現在でも改善されていないし、そもそも問題意識すらあるようには思えない。指導的な立場の研究者であれ、官僚であれ、とにかく決定できる立場の人が、自分自身や、自分の研究室・研究テーマ・人脈・所属組織への利益誘導を目的として行動し発言する。そして、そういう利益誘導が指導者の“仕事”であり、組織構成員から望まれている“政治力”だと誤解しているからである。

日本および世界の大多数の人々への利益誘導ではなく、自分や自グループへの利益誘導をするのが犯罪ではなく、“善”とされる研究文化風土が、日本の指導者層にはある。そういう研究文化風土のなかでは、新しい研究分野は育成する対象ではなく、意図的に無視または攻撃する対象になってしまう。

インテグリンのように“研究対象”としては画期的で、アメリカにいた日本人研究者が多額の貢献をしたにもかかわらず、日本がまともに対応しなかった例は、ほかにもいろいろあるだろうと思う。インテグリンの

この解説を書き、「どーしたらいいんだらうか？」とハヤシは悩みました。

文 献

- 1) Yamada, K. M. : *Matrix Biology*, **16**, 137-141 (1997)
- 2) Hynes, R. O. : *Fibronectins*, Springer-Verlag, New York (1990)
- 3) Pierschbacher, M. D., Ruoslahti, E. : *Nature*, **309**, 30-33 (1984)
- 4) Pytela, R., Pierschbacher, M. D., Ruoslahti, E. : *Cell*, **40**, 191-198 (1985)
- 5) Hasegawa, T., Hasegawa, E., Chen, W.-T., Yamada, K. M. : *J. Cell. Biochem.*, **28**, 307-318 (1985)
- 6) Tamkun, J. W., DeSimone, D. W., Fonda, D., Patel, R. S., Buck, C., Horwitz, A. F., Hynes, R. O. : *Cell*, **46**, 271-282 (1986)
- 7) Takada, Y., Strominger, J. L., Hemler, M. E. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 3239-3243 (1987)
- 8) Poncz, M., Eisman, R., Heidenreich, R. *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **262**, 8476-8482 (1987)
- 9) Hynes, R. O. : *Cell*, **48**, 549-554 (1987)
- 10) Carter, W. G., Ryan, M. C., Gahr, P. J. : *Cell*, **65**, 599-610 (1991)
- 11) Kreidberg, J. A., Donovan, M. J., Goldstein, S. L. *et al.* : *Development*, **122**, 3537-3547 (1996)
- 12) Rothlein, R., Dustin, M. L., Marlin, S. D. *et al.* : *J. Immunol.*, **137**, 1270-1274 (1986)
- 13) Isobe, M., Yagita, H., Okumura, K. *et al.* : *Science*, **255**, 1125-1127 (1992)