

脂質 GPCR 構造解析の現在地：クライオ電子顕微鏡が拓いた進展

東京大学大学院・理学系研究科

九川 真衣

Structural Insights of Lipid GPCRs: Advances Driven by Cryo-EM

Graduate School of Science, The University of Tokyo

Mai Kugawa

(投稿日 2025/9/4、再投稿日 2025/11/7、受理日 2025/11/17)

キーワード: G タンパク質共役型受容体、GPCR、脂質メディエーター、クライオ電子顕微鏡

概要

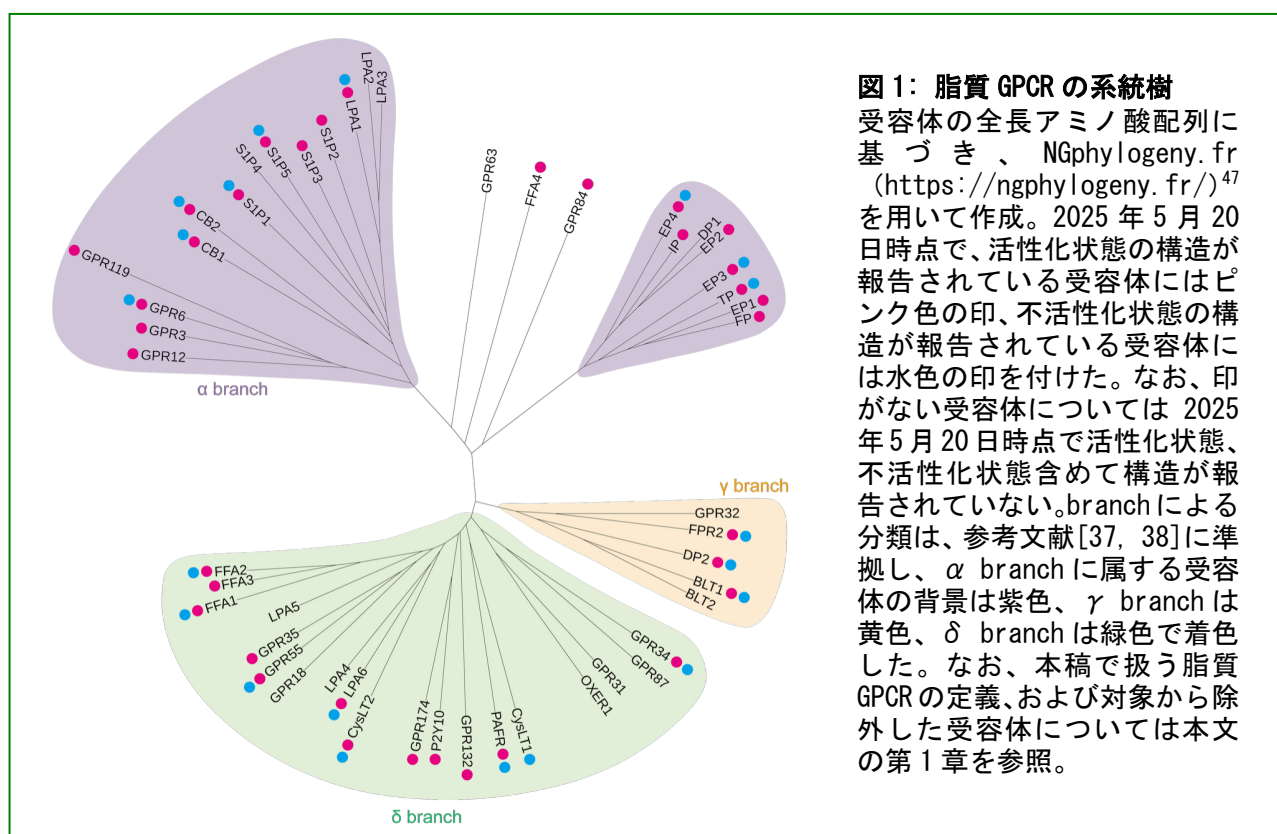
G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は、細胞外に存在する物質を受容し、細胞内にシグナルを伝達する膜タンパク質群である。中でも、脂質を特異的に認識する脂質 GPCR は、その生理的・薬理学的重要性から構造解析が進められてきた。2019 年に本アーカイブで公開された谷口怜哉氏による「脂質受容 GPCR の構造解析の現状」と題する総説では、当時報告されていた 11 種類の脂質 GPCR の構造に基づき、これらの受容体に特徴的な lid 構造や gap 構造について議論された。その後、クライオ電子顕微鏡構造解析技術の飛躍的な発展により、従来は困難であった三量体 G タンパク質と複合体を形成した活性化状態の構造が数多く解明され、脂質 GPCR の分子機構に対する理解は急速に深まっている。本稿では最新の構造情報に基づき、まず lid 構造と gap 構造について改めて検証する。さらに、内在性リガンドの結合様式という本稿独自の切り口から、「polar-out タイプ」と「polar-in タイプ」という新たな分類を提案し、これが脂質 GPCR の活性化機構の多様性や系統分類と一定の相関をもつことを示す。本稿が、脂質 GPCR のもつ多様な分子機構の理解に向けた新たな視点を提供できれば幸いである。

第1章: はじめに

脂質は、脂質二重膜の構成成分やエネルギー源として利用されるだけでなく、細胞膜に存在する特定の分子に作用することで細胞内のシグナル伝達を巧みに制御する役割も担っている。このような生理活性をもつ脂質は「脂質メディエーター」と総称される。その種類は多岐にわたり、リゾホスファチジン酸 (LPA) やスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) といったリゾリン脂質、プロスタグランジン、ロイコトリエン、トロンボキサンなどのエイコサノイド、さらにはエンドカンナビノイド、血小板活性化因子、遊離脂肪酸などが同定されている^{1,2}。

脂質メディエーターが作用する代表的な標的分子が、G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と呼ばれる膜タンパク質群である。GPCR は、脂質をはじめ、アミン、ペプチド、核酸、タンパク質、イオンといった細胞外に存在する多種多様な物質をリガンドとして認識して活性化し、細胞内に存在する三量体 G タンパク質との相互作用を介して下流のシグナル伝達を引き起こす。

この数十年の間に脂質メディエーターとその標的となる GPCR の組み合わせが次々と解明され、現在では 50 種類近くの GPCR が脂質メディエーターを認識することが報告されている³ (図 1)。本稿では、これらの GPCR を「脂質 GPCR」と呼称する。なお、本稿における脂質 GPCR とは、クラス A GPCR (オーファン受容体を含む) のうち、(i) 脂質メディエーターを内在性リガンドとして認識することが同定されている、もしくは (ii) 脂質メディエーターを認識することが示唆されており、かつ脂質メディエーターが結合した状



態の実験構造が報告されている受容体と定義する。ただし、本稿ではステロイド骨格をもつリガンドを認識する受容体は解析対象から除外する。これは、ステロイド骨格をもつリガンドは、一般的な脂質と異なり分子の両端に極性部位が存在することから、本稿の第 4 章におけるリガンド結合様式に基づく分類を適用することが困難であるためである。これらの脂質 GPCR は、免疫、代謝、疼痛、循環、発生、生殖など、極めて広範な生命現象の調節に関与しており、その生理的・薬理学的重要性から、創薬のターゲットとしても高い注目を集めている¹⁻³。

こうした背景から、X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡構造解析といった構造生物学的手法を用いて、数多くの脂質 GPCR の立体構造が解明されてきた³。これにより、個々の受容体におけるリガンド認識や活性化のメカニズムが、分子レベルで詳細に理解されつつある。2019 年、蛋白質科学会アーカイブにおいて谷口怜哉氏（現・国立研究開発法人理化学研究所 生命医科学研究センター チームディレクター）による総説「脂質受容 GPCR の構造解析の現状」が公開された。この谷口氏の総説では、当時報告されていた 11 種類の脂質 GPCR の構造に基づき、主に脂質 GPCR に特徴的な構造である lid 構造や gap 構造に着目した議論が展開された⁴。

谷口氏の総説が公開されてから現在までの約 6 年間で、特にクライオ電子顕微鏡構造解析の技術革新は目覚ましく、GPCR の構造解析は新たな時代を迎えた。クライオ電子顕微鏡構造解析では、X 線結晶構造解析における結晶化のステップが不要であるため、より迅速な構造決定が可能となり、脂質 GPCR の構造の報告数は加速度的に増加した。さらに、従来は構造決定が極めて困難であった、三量体 G タンパク質と複合体を形成した活性化状態の GPCR の構造解析が飛躍的に容易になった⁵。これにより、内在性リガンドの認識機構や、活性化状態と不活性化状態の立体構造の比較によって GPCR の活性化機構にも迫ることが可能になり、脂質 GPCR の分子メカニズムに対する理解は急速に深まっている。

筆者自身、クライオ電子顕微鏡構造解析

表 1: 本稿で用いた脂質 GPCR の構造

本稿で解析の対象とした 27 種類の脂質 GPCR の構造について、受容体名、PDB ID、当該構造で結合している内在性リガンド名を一覧で示す。同一の受容体・リガンドの組み合わせで複数の構造が報告されている場合は、最も分解能の高い構造を選出した。

脂質 GPCR 名	PDB ID	結合内在リガンド名
EP1	9M1H	プロスタグランジン E2 (PGE2)
EP2	7CX2	プロスタグランジン E2 (PGE2)
EP3	8GDC	プロスタグランジン E2 (PGE2)
EP4	8GCP	プロスタグランジン E2 (PGE2)
FP	8IUK	プロスタグランジン F2α (PGF2α)
GPR3	8WW2	オレイン酸 (Oleic acid)
GPR119	7XZ5	リゾホスファチジルコリン (LPC)
LPA1	7TD0	リゾホスファチジン酸 (LPA)
S1P1	7VIE	スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P)
S1P2	7T6B	スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P)
S1P3	7EW3	スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P)
BLT1	7VKT	ロイコトリエン B4 (LTB4)
DP2	9IYB	プロスタグランジン D2 (PGD2)
FPR2	8Y62	セラミド (Ceramide)
CysLT2	9IXX	ロイコトリエン B4 (LTB4)
FFA1	8EIT	ドコサヘキサエン酸 (DHA)
FFA2	8J24	酢酸 (Acetic acid)
FFA3	8J20	吉草酸 (Valeric acid)
GPR34	8WRB	リゾホスファチジルセリン (LysoPS)
GPR55	9GE3	リゾホスファチジルイノシトール (LPI)
GPR132	8HQN	N-パルミトイルグリシン (NPGly)
GPR174	7XV3	リゾホスファチジルセリン (LysoPS)
LPA6	9ITB	リゾホスファチジン酸 (LPA)
P2Y10	8KGG	リゾホスファチジルセリン (LysoPS)
PAFR	8XYD	血小板活性化因子 (PAF)
FFA4	8ID6	オレイン酸 (Oleic acid)
GPR84	8J18	3-ヒドロキシドデカン酸 (3-OH-C12)

を用いて短鎖脂肪酸受容体 (FFA2) の構造解析を行った経験⁶から、脂質 GPCR が示すリガンド認識機構や活性化機構の多様性に魅了され、脂質 GPCR の構造解析分野における近年の急速な知見の集積を整理・考察したいという思いに至った。そこで、本稿を谷口氏の総説のアップデート版と位置付け、脂質 GPCR の構造解析の最前線を紹介する。まず第 2 章で、この 6 年間の技術革新によって進展した脂質 GPCR の構造解析の現状を概観する。続く第 3 章では、脂質 GPCR に特徴的な構造である lid 構造と gap 構造について、最新の構造情報に基づき再検証する。さらに第 4 章では、本稿において筆者が独自に見出した内在性リガンドの結合様式に基づく新たな分類と、それが示唆する活性化機構の多様性について論じたい。なお、本稿で扱う脂質 GPCR の名称は分野内で広く認知された表記を用いることとし、その一覧は表 1 に示す。

第 2 章: 2019–2025 年における脂質 GPCR 構造解析の進展

本章では、2019 年から 2025 年にかけての脂質 GPCR 構造解析の進展と、それによって可能となった新たな議論の土台について詳述する。2019 年の谷口氏の総説によると、当時立体構造が報告されていた脂質 GPCR はわずか 11 種類であった。しかし、2025 年 5 月 20 日現在、Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>)⁷ に構造が登録された脂質 GPCR は 36 種類にも上り、このわずか 6 年余りで構造が報告された受容体数が 3 倍以上に増加したことから、この分野の急速な発展がうかがえる。

この脂質 GPCR の構造数の飛躍的な増加は、構造解析の主要な手法が X 線結晶構造解析からクライオ電子顕微鏡構造解析へと大きくシフトしたことに起因する。X 線結晶構造解析では、試料の安定性が結晶化の成否を左右するため、比較的安定な不活性化状態での構造解析が主流であった⁵。実際、2019 年時点で構造が報告されていた 11 種類の脂質 GPCR のうち、8 種類は不活性化状態でのみ構造が報告されていた⁴。残りの 3 種類は作動薬が結合した活性化状態の構造も報告されていたが、これらは三量体 G タンパク質との複合体ではなく、受容体の細胞内ループに可溶性タンパク質 (BRIL や T4 リゾチーム) を融合することで安定化されたものであった^{8–11}。三量体 G タンパク質と結合した生理的な活性化状態の GPCR は非常に不安定であることから、この複合体の構造を X 線結晶構造解析で決定することは極めて困難であった。

しかし、クライオ電子顕微鏡構造解析では結晶化が不要であるため、X 線結晶構造解析では扱うことが困難であった、不安定な複合体の構造解析が可能になった。この技術的ブレークスルーにより、特に三量体 G タンパク質と複合体を形成した活性化状態の GPCR の構造解析が飛躍的に容易になり、脂質 GPCR においても数多くの活性化状態の構造が報告されるようになった⁵。近年では、活性化状態と不活性化状態の両方の構造が解明された受容体も増加しており、両者の構造を重ね合わせて比較することで、受容体がリガンドを受容した後どのようなようにして活性化するのか、そのメカニズムに迫ることが可能になりつつある (図 1)。

活性化状態の構造解析が容易になったことは、もう一つの重要な進展をもたらした。それは、内在性リガンドが結合した状態の構造数が飛躍的に増加したことである。2019 年当時は、プロスタグランジン E₂ (PGE₂) が結合した EP3 の構造が内在性リガンドとの複合体構造の唯一の例⁴であったが、この構造は三量体 G タンパク質と複合体を形成しておらず、生理的な活性化状態を完全に再現しているとは言えなかった。これに対し、クライオ電子顕微鏡構造解析を用いることで、内在性リガンドが結合し、かつ三量体 G タンパク質と複合体を形成した、より生理的な状況に近い活性化状態の構造を得ることが可能になった。2025 年 5 月 20 日現在、構造が報告されている 36 種類の脂質 GPCR のうち、27 種類において内在性リガンドと三量体 G タンパク質が結合した活性化状態の構造が報告されている¹²⁻³⁶。本稿では、より生理的な活性化状態に近い構造を用いて議論を行うため、かつ比較対象となる構造間の条件を統一するために、これら 27 種類の構造に解析対象を絞り、次章以降の議論を展開する (表 1)。

このようにして構造情報が大幅に拡充されたことに伴い、脂質 GPCR の構造的特徴を、系統分類と関連付けながら包括的に考察することも可能になった。一般的に GPCR は、アミノ酸配列に基づいて系統樹を作成すると大きく 4 つのグループに分類され、それぞれ α 、 β 、 γ および δ branch と呼称されている^{37,38}。また、共通の物性をもつリガンドを認識する GPCR は系統的に近縁な傾向にあり、例えばアミン系のリガンドを認識する GPCR 群は α branch に集中している。一方で、谷口氏の総説でも言及されているように、脂質 GPCR は系統樹上で特定のグループに集中せず、 α 、 γ および δ branch に渡って広く分散しているという特徴をもつ⁴ほか、FFA4 や GPR84 のようにどの branch にも属さないものも存在する (図 1)。また、脂質 GPCR においては、全く同一のリガンドが系統的に離れた複数の GPCR を活性化する例が散見されるという特徴がある。例えば、長鎖脂肪酸という脂質は、 δ branch に属する FFA1 を活性化するだけでなく、FFA1 とは系統的に離れた FFA4 も活性化する。さらに、FFA1 と FFA4 の構造比較によって、FFA1 においては長鎖脂肪酸が脂質二重膜と並行に結合するのに対して、FFA4 においては長鎖脂肪酸が脂質二重膜と垂直に結合することが明らかになっている。このように、同一のリガンドが、系統的に離れた受容体に対して、大きく異なる様式で結合するという現象は、LPA という別の脂質を認識する受容体群 (LPA1-LPA6) にも観察されており、脂質以外の物質をリガンドとして受容する GPCR 群には見られない脂質 GPCR に特有の特徴である^{39,40}。こうした構造情報と系統分類を紐付けた議論は、この 6 年間で比較対象となる構造が拡充されたことによって、ようやく実現可能になったと言える。

以上のように、この 6 年間ににおけるクライオ電子顕微鏡構造解析の技術革新は、脂質 GPCR の構造解析分野を大きく進展させた。三量体 G タンパク質と複合体を形成した活性化状態の構造解析が容易になったことから、受容体の活性化機構や、内在性リガンドの結合様式に迫ることが可能になった。さらに構造情報の拡充により、個々の受容体における各論に留まらず、構造情報と系統分類とを結びつけた包括的な考察を行う材料が揃った。

次章以降では、この新たに得られた土台に立ち、脂質 GPCR がもつ構造的特徴や分子メカニズムについて、さらに議論を深めていきたい。

第3章: lid 構造と gap 構造の再検証

本章では、2025 年 5 月 20 日現在までに報告されている、内在性リガンドが結合した 27 種類の脂質 GPCR の構造に基づいて、脂質 GPCR に特徴的な lid 構造と gap 構造を再検証し、その多様性と系統分類との関連を考察する。

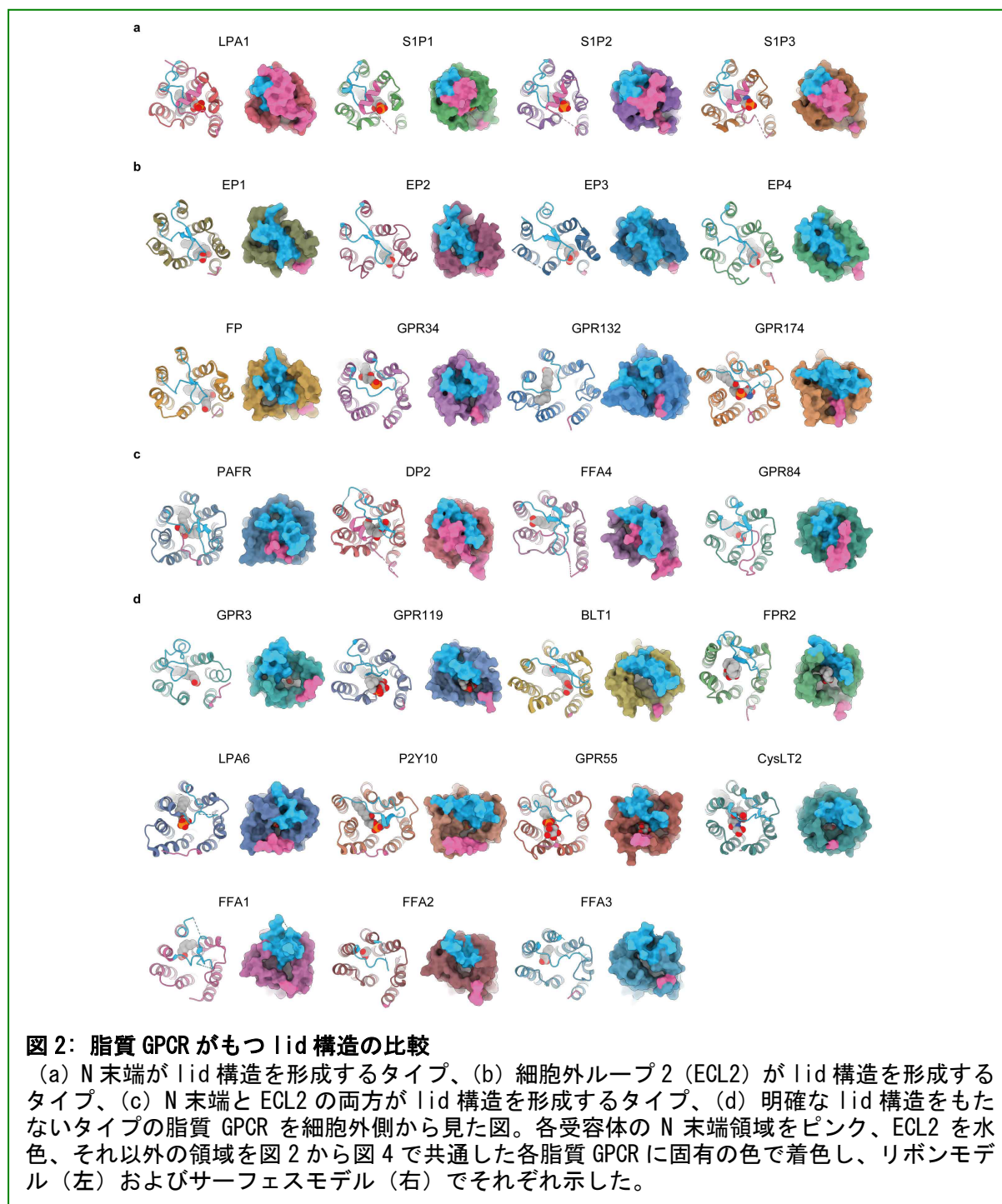
GPCR は、一般的に細胞外側に向かって開いたリガンド結合ポケットをもち、細胞外に存在するリガンドがアクセスしやすい構造をとっている。しかし、脂質 GPCR の中には、受容体の N 末端領域や細胞外ループ(ECL)によって構成された蓋のような構造によって、リガンド結合ポケットが覆われているものが存在する。この蓋のような構造は lid 構造と呼称され、脂質 GPCR で観察される特徴的な構造の一つだと認識されてきた。lid 構造は、結合したリガンドとの相互作用を介してその結合を安定化すると共に、細胞外からのリガンドのアクセスを遮断する役割をもつと考えられている^{3,41,42}。

谷口氏の総説では、当時構造が報告されていた 11 種類の脂質 GPCR が、lid 構造の有無やそれを形成する領域の違いから、(1) N 末端が lid 構造を形成するタイプ、(2) ECL2 (細胞外第 2 ループ) が lid 構造を形成するタイプ、(3) N 末端と ECL2 の両方が lid 構造を形成するタイプ、(4) 明確な lid 構造をもたないタイプの 4 つのタイプに分類されていた。谷口氏は、多くの脂質 GPCR に保存されている lid 構造が、脂質 GPCR の機能にとって重要である可能性を示しつつも、lid 構造をもたない脂質 GPCR も存在することから、lid 構造の有無が脂質 GPCR の機能に与える影響については今後の検討課題としていた⁴。本章前半では、これまでに報告された内在性リガンドが結合した 27 種類の脂質 GPCR の構造を用い、lid 構造の多様性や系統分類との関連について議論する。

ここで、本稿における lid 構造の有無の基本的な判断基準として、「受容体のサーフェスモデルを細胞外側から見た際に、リガンド結合ポケットの大部分が N 末端もしくは ECL2 によって覆われていること」とする。その結果、27 種類の脂質 GPCR は、例外なく谷口氏の総説で提唱されていた lid 構造の有無やそれを形成する領域の違いにより、4 タイプに分類可能であった (図 2)。

まず、(1) N 末端が lid 構造を形成するタイプでは、N 末端がヘリックスを形成し、リガンド結合ポケットの大部分を覆っていた (図 2a)。このタイプには、谷口氏の総説で取り上げられていた LPA1 と S1P1 に加え、新たに S1P2 と S1P3 が加わった。これらの受容体は、 α branch に属する受容体の中でも特に近縁であることから、N 末端によって形成された lid 構造が系統的に保存されていることが示唆された。

次に、(2) ECL2 が lid 構造を形成するタイプでは、長い ECL2 がリガンド結合ポケットの大部分を覆い、一方で N 末端は極端に短いという特徴が保存されていた (図 2b)。このタイプには、EP3、EP4、TP に加え、新たに α branch に属する EP1、EP2、FP といったブ



ロスタグランジン受容体群だけでなく、系統的に離れた δ branch に属する GPR34、GPR174、GPR132 も含まれた。このことから、ECL2 によって形成された lid 構造は、異なる系統の脂質 GPCR が収斂的に獲得した構造である可能性が考えられる。

(3) N 末端と ECL2 の両方が lid 構造を形成するタイプでは、長い N 末端と ECL2 の両方によってリガンド結合ポケットが覆われていた (図 2c)。このタイプには、 δ branch に属する PAFR と γ branch に属する DP2 に加え、どの branch にも属さない FFA4 と GPR84 が

新たに加わった。これらの受容体は系統的に離れており、構造的類似性と系統的な近さに強い相関はないことが示された。

最後に、(4) 明確な lid 構造をもたないタイプでは、リガンド結合ポケットが N 末端や ECL2 によって完全には覆われず、リガンド結合ポケットまたはリガンドそのものの一部が細胞外側に露出していた (図 2d)。このタイプには、FFA1、LPA6、BLT1 に加え、GPR3、GPR119、FPR2、GPR55、P2Y10、FFA2、FFA3、CysLT2 といった多数の受容体が追加された。2019 年当時はこのタイプが例外であるのか検討の余地が残されていたが、構造数が拡大したことで、受容体によっては lid 構造をもたなくても受容体としての機能が保持されることが判明した。このタイプは α 、 γ および δ branch に広く分布しており、系統的な近さによらず、各受容体が個別に獲得した特徴であると考えられる。

以上のように、改めて 27 種類の構造を用いて網羅的に比較することにより、lid 構造が多く脂質 GPCR に保存された特徴であることが再確認された。一方で、明確な lid 構造をもたないタイプは、本稿で比較対象とした 27 種類の構造のうち 11 種類を占めており、決して例外的な存在ではないことが明らかとなった。このタイプには、短鎖脂肪酸をリガンドとして受容する FFA2 や FFA3 が含まれる。短鎖脂肪酸は他の多くの脂質メディエーターと比較して親水性が高いため、これらの受容体では lid 構造が存在しないことが、リガンドが細胞外からリガンド結合ポケットへ直接アクセスする上で、むしろ有利に働いている可能性も考えられる。また lid 構造の類似性と系統分類の相関については、S1P 受容体群やプロスタグランジン受容体群のように極めて近縁な受容体間では共通の構造的特徴が保存されている。一方、脂質 GPCR 全体を俯瞰すると、谷口氏の総説でも述べられていたように構造的類似性と系統分類との間に強い相関は見られないことから、lid 構造は各受容体のリガンドの性質などに応じて個別に獲得してきた特徴であると推察される。

lid 構造とともに脂質 GPCR で観察される特徴的な構造が、gap 構造である。gap 構造とは、受容体の膜貫通領域に存在する脂質二重膜に向かって開いた間隙のことを指す。gap 構造は、主に細胞外側が lid 構造で被覆された受容体において、その代替となるリガンド侵入経路として機能すると考えられてきた^{3,41,42}。

谷口氏の総説では、当時構造が報告されていた 11 種類の脂質 GPCR が、gap 構造の有無や位置の違いから、(1) 膜貫通ヘリックス (TM) 1 と TM7 の間に gap 構造をもつタイプ、(2) TM4 と TM5 の間に gap 構造をもつタイプ、(3) TM3 と TM4 の間に gap 構造をもつタイプ、(4) gap 構造をもたず細胞外側に向かって開いた開口部をもつタイプ、(5) gap 構造も細胞外側に向かって開いた開口部ももたないタイプの 5 つのタイプに分類されていた。谷口氏は、脂質 GPCR の多くに保存された gap 構造が、疎水性の高い脂質をリガンドとして認識する上で重要な役割を担う可能性を示しつつ、リガンドの実際の侵入経路や gap 構造のダイナミクス、および gap 構造がもつ機能的意義については今後の検証課題としていた⁴。本章後半では、これまでに報告された内在性リガンドが結合した 27 種類の構造を用い、gap 構造の多様性や系統分類との関連について議論する。

ここで、本稿における **gap** 構造の有無の基本的な判断基準として、「立体構造において、脂質 GPCR の膜貫通領域に存在し、脂質二重膜に向かって明確に開いた間隙であり、その間隙がリガンド結合ポケットと空間的に連続していること」とする。その結果、27 種類の脂質 GPCR は、例外なく谷口氏の総説で提唱された **gap** 構造の有無や位置の違いによる 5 タイプに分類可能であった (図 3)。

まず、(1) TM1 と TM7 の間に **gap** 構造をもつタイプでは、膜貫通領域の細胞外側に近い領域に間隙が存在していた (図 3a)。このタイプには、谷口氏の総説で取り上げられていた EP4 に加え、新たに S1P2 と EP3 が分類された。これらの受容体は、いずれも α branch に属することから、TM1 と TM7 の間に形成された **gap** 構造は、 α branch の一部に保存された構造的特徴であることが示唆された。一方で、谷口氏の総説でこのタイプに分類されていた S1P1 と DP2 は、本稿で用いた内在性リガンドが結合した構造では、細胞外側に向かって開いた開口部をもつタイプに分類された。このことは、**gap** 構造の位置が受容体の活性化状態や結合しているリガンド、構造解析手法の違いによって変化する動的なものであることを示唆している。

次に、(2) TM4 と TM5 の間に **gap** 構造をもつタイプでは、膜貫通領域の中間部に間隙が存在し、そこから細胞内側に向かって垂直に伸びた溝のような構造が観察された (図 3b)。一部の受容体では、リガンドの炭化水素鎖が溝に沿って結合しており、この溝が脂質の侵入や認識に寄与していることが示唆されている^{25,31,34}。このタイプには、 δ branch に属する LPA6 と PAFR に加え、同じく δ branch に属する P2Y10、GPR34、GPR174、CysLT2、GPR55、さらには α branch に属する GPR3、GPR119、S1P3 が新

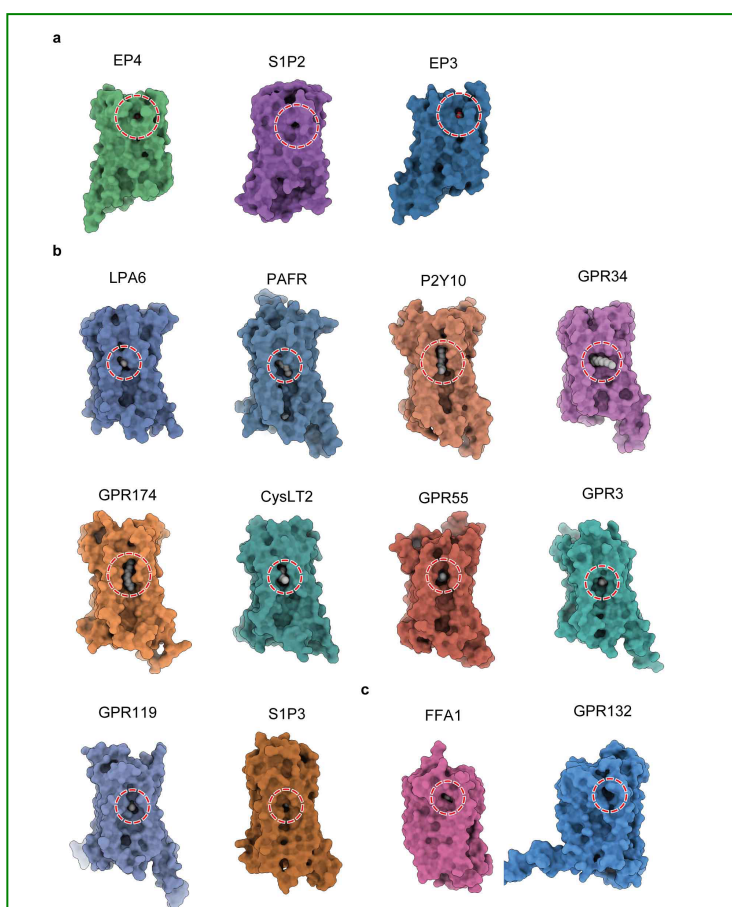


図 3: 脂質 GPCR がもつ gap 構造の比較

(a) TM1 と TM7 の間に **gap** 構造をもつタイプ、(b) TM4 と TM5 の間に **gap** 構造をもつタイプ、(c) TM3 と TM4 の間に **gap** 構造をもつタイプの脂質 GPCR のサーフェスモデルを側面から見た図。各受容体の **gap** 構造が正面を向くように分子の向きを調整し、**gap** 構造の位置を赤色の破線円で示した。間隙が脂質二重膜に向かって開いているか、もしくは細胞外側に向かって開いているか判断が困難な場合には、膜タンパク質に対して脂質二重膜の位置を算出し可視化する PPM 3.0 Web Server⁴⁸ を用いて判断した。**gap** 構造をもたず細胞外側に向かって開いた開口部をもつタイプ、**gap** 構造も細胞外側に向かって開いた開口部ももたないタイプの受容体は図示を省略した。

たに分類された。このことから、TM4 と TM5 の間に形成された **gap** 構造は、 δ branch に属する受容体の多くに保存されている一方、 α branch の一部にも見られる特徴であることが明らかになった。興味深いことに、このタイプに属する受容体のうち LPA6、P2Y10、CysLT2、GPR55、GPR3、GPR119、S1P3 においては、リガンドが受容体の細胞外側と膜貫通領域を貫通するように結合していた。これらの受容体において、リガンドが細胞外側と **gap** 構造のどちらから侵入するのかは、さらなる検証が必要である。

続いて、(3) TM3 と TM4 の間に **gap** 構造をもつタイプでは、膜貫通領域の中間部に間隙が存在するが、TM4 と TM5 の間に **gap** 構造をもつタイプで観察された溝のような構造は観察されなかった (図 3c)。このタイプには、 δ branch に属する FFA1 に加え、同じく δ branch に属する GPR132 が新たに分類された。したがって、この特徴は δ branch の一部に保存された特徴であると推察されるが、現状は該当する受容体が少ないため、未だ構造が報告されていない脂質 GPCR においてこの TM3 と TM4 の間に形成された **gap** 構造がどの程度保存されているのか、今後の報告に注目したい。

そして、(4) **gap** 構造をもたず細胞外側に向かって開いた開口部をもつタイプには、谷口氏の総説で取り上げられた γ branch に属する BLT1 に加え、新たに α branch に属する LPA1、S1P1、FP、 γ branch に属する DP2、FPR2、 δ branch に属する FFA2、FFA3、そしてどの branch にも属さない FFA4 が分類された。この細胞外側に向かって開いた開口部は、各受容体の lid 構造の有無によって開き具合の程度は異なるものの、系統的な近さによらず広く分布していることが示された。

最後に、(5) **gap** 構造も細胞外側に向かって開いた開口部ももたないタイプには、新たに α branch に属する EP1 と EP2、そしてどの branch にも属さない GPR84 が分類された。このうち GPR84 では、MD シミュレーションにより ECL2 が開閉することでリガンドの侵入を可能にしていることが示唆されている³⁶。

以上のように、内在性リガンドが結合した 27 種類の構造を用い、改めて網羅的に比較を行った結果、**gap** 構造が多くの脂質 GPCR に広く保存された特徴であることが再確認された。**gap** 構造の有無や位置の類似性と系統分類との相関については、 δ branch に属する受容体の多くが TM4 と TM5 の間に **gap** 構造をもつように、一部の近縁な受容体群では共通の特徴が保存されている傾向が見られるものの、全体として必ずしも強い相関があるわけではないことが明らかとなった。

第 4 章: リガンド結合様式に基づく新たな分類と活性化機構

前章では、lid 構造や **gap** 構造といった脂質 GPCR 側の構造的特徴に着目して比較・分類を行った。本章では、本稿独自の切り口として、受容体活性化の引き金となるリガンドと受容体の相互作用、すなわちリガンドの結合様式に焦点を当てて比較・分類を行う。これにより、受容体の活性化機構や系統分類とのより直接的な関連性を考察する。

まず、内在性リガンドが結合した 27 種類の構造を用いて、各脂質 GPCR におけるリガ

ンドの結合様式を比較した (図 4a-c)。その結果、脂質 GPCR におけるリガンドの結合様式は、リガンドが結合する向きによって、(1) polar-out タイプと (2) polar-in タイプという、大きく二つのタイプに分類できることを新たに見出した。

(1) polar-out タイプのリガンド結合様式をもつ脂質 GPCR では、リガンドである脂質の極性頭部が細胞外側を向き、脂質の炭化水素鎖がリガンド結合ポケットの内部 (奥側) へと挿入された状態で結合している (図 4a)。この結合様式は、 α branch に属する S1P 受容体群 (S1P1、S1P2、S1P3)、LPA1、プロスタグランジン受容体群 (EP1、EP2、EP3、EP4、FP)、GPR3、GPR119 や、 γ branch に属する BLT1、そしてどの branch にも属さない GPR84、FFA4 といった、比較的近縁の脂質 GPCR において観察された。

一方、(2) polar-in タイプのリガンド結合様式をもつ脂質 GPCR では、polar-out タイプとは反対にリガンドの極性頭部がポケットの内部 (奥側) に向かって結合している (図 4b)。一方脂質の炭化水素鎖は、一部の脂質 GPCR においては、膜貫通領域に存在する gap 構造を介して脂質二重膜へと伸びている。このタイプのリガンド結合様式は、本稿で解析対象とした 27 種類の受容体のうち CysLT2、FFA1、FFA2、FFA3、GPR34、GPR55、GPR132、GPR174、LPA6、P2Y10、PAFR に保存されており、興味深いことに、これらの受容体は例外なく δ branch に属する。

ただし、 γ branch に属する

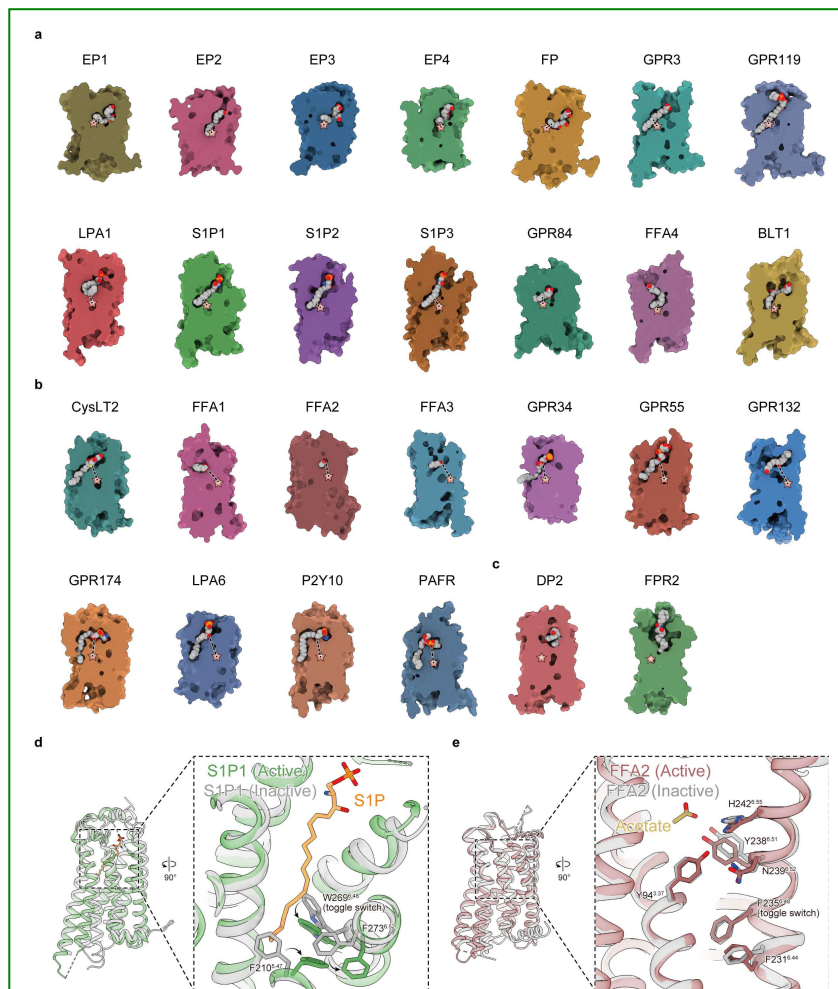


図 4: 脂質 GPCR のリガンド結合様式と活性化機構の比較

(a) polar-out タイプ、(b) polar-in タイプ、(c) いずれにも分類不可能な脂質 GPCR のサーフェスモデルの断面図。Toggle switch (Ballesteros-Weinstein numbering で 6.48) の位置をピンク色の星印で示す。Polar-out タイプの受容体では、リガンドの炭化水素鎖のうち toggle switch から最も近い炭素原子と toggle switch の側鎖の間、polar-in タイプの受容体では、リガンドの極性頭部のうち toggle switch から最も近い原子と toggle switch の側鎖の間を破線で示した。(d) polar-out タイプに属する S1P1 の活性化状態 (緑、PDB ID: 7VIE) と不活性化状態 (灰色、PDB ID: 3V2Y) の構造の重ね合わせ。(e) polar-in タイプに属する FFA2 の活性化状態 (褐色、PDB ID: 8J24) と不活性化状態 (灰色、PDB ID: 8Y6Y) の構造の重ね合わせ。

DP2 と FPR2 は、リガンドが結合する向きを判断することが困難であり、polar-in タイプ、polar-out タイプのいずれにも分類することが不可能であった (図 4c)。これは、DP2 ではリガンドのプロスタグランジン D₂ が U 字型に折れ曲がってポケットに収まっているため、また FPR2 ではリガンドのセラミドが 1 つの極性頭部から 2 本の炭化水素鎖を逆方向 (180 度) に伸ばした形状で結合しており、明確な向きを定義できないためである。

さらに polar-in タイプと polar-out タイプでは、リガンドが結合する向きだけでなく、リガンド結合ポケットの深さにも違いが存在する。Polar-out タイプの脂質 GPCR は、受容体の中心部まで深く伸びたポケットをもつのに対し、polar-in タイプの脂質 GPCR は、細胞外側に近い比較的浅いポケットをもつ (図 4a, b)。

より定量的にリガンド結合ポケットの深さを比較するために、受容体に結合したリガンドと、受容体の toggle switch (Ballesteros-Weinstein numbering*で 6.48 の位置) と呼ばれる特定の残基間の距離を測定した。Toggle switch とは、クラス A GPCR において保存性の高い特定の残基のことを指す。リガンドが GPCR のリガンド結合ポケットに結合することで、toggle switch やその周辺残基の構造変化を引き起こし、これが引き金となって最終的に受容体全体の構造変化が起こる。そのため toggle switch は、リガンドが受容体の活性化を引き起こすのに重要な残基の一つとして広く認識されている⁴³。*クラス A GPCR の各 TM で最も保存性の高い残基を x.50 (x=TM 番号) と定め、その相対位置で残基を表す表記法で、一般的に残基番号の右肩に記載する。

polar-out タイプの脂質 GPCR では、リガンド結合ポケットの奥側に結合した脂質の炭化水素鎖と toggle switch の側鎖との間で、最も近い炭素原子間の距離は $4.34 \pm 1.32 \text{ \AA}$ (n=14, 3.36-8.61) であり、脂質の炭化水素鎖が toggle switch と相互作用をすることで、toggle switch や周辺残基の構造変化、最終的には受容体全体の構造変化を引き起こすと考えられる (図 4a)。例えば polar-out タイプのリガンド結合様式を示す S1P1 では、リガンドである S1P の炭化水素鎖が toggle switch (W269^{6.48}) やその近傍の残基 (F210^{5.47}、F273^{6.52}) と相互作用し、これらの残基のコンフォメーションを変化させることが、受容体活性化の引き金となっている^{19,42} (図 4d)。このような、リガンドの炭化水素鎖と受容体の toggle switch やその周辺残基の相互作用を起点とする活性化機構は、polar-out タイプに属する LPA1 や EP3 などにおいても観察される^{14,18}。

一方、polar-in タイプの脂質 GPCR では、リガンド結合ポケットの奥側に結合した脂質の極性頭部と toggle switch の側鎖との間で、最も近い原子間 (水素原子を除く) の距離は $11.95 \pm 1.29 \text{ \AA}$ (n=11, 9.68-13.90) であった (図 4b)。そのため、脂質が toggle switch やその周辺残基の構造変化を直接引き起こすことは不可能であると考えられ、polar-in タイプの脂質 GPCR は、polar-out タイプの脂質 GPCR とは異なる活性化機構をもつことが示唆される。では、polar-in タイプの脂質 GPCR はどのようなメカニズムで活性化されるのだろうか。例えば、polar-in タイプに属する FFA2 では、リガンドである酢酸の極性頭部が、toggle switch (F235^{6.48}) から数残基分離れた位置に存在する極性残基群 (Y238^{6.51}、H242^{6.55}) と相互作用

用することで、間接的に TM 全体の構造変化を引き起こす^{6,27} (図 4e)。こうしたリガンドの極性頭部と受容体の極性残基群との相互作用を起点とする活性化機構は、polar-in タイプに属する LPA6、CysLT2、GPR34 においても観察されている^{25,32,44}。

以上のように、本稿では、内在性リガンドが結合した 27 種類の構造を用い、リガンドの結合様式に焦点を当てて比較・分類を行った結果、リガンドが結合する方向によって polar-out タイプと polar-in タイプの二つに大別できることを新たに見出した。この分類は、活性化の起点がリガンドの炭化水素鎖と極性頭部のどちらに由来するのかという、受容体の活性化機構の根本的な違いを反映している。さらに、長鎖脂肪酸や LPA のように同一の脂質メディエーターであっても、作用する受容体によってこれら二つの異なる結合様式を使い分ける例も存在することは、脂質 GPCR を基点とするシグナル伝達機構の多様性と複雑さを示唆する興味深い事実である。

そして、この脂質 GPCR におけるリガンド結合様式と系統分類との間には、比較的強い相関が見られることを新たに見出した。前述の通り、polar-out タイプの脂質 GPCR は、 α branch、 γ branch、どの branch にも属さないグループのいずれかに属し、polar-in タイプの脂質 GPCR は、少なくとも本稿の解析対象の範囲内において、例外なく δ branch に属していた。したがって、DP2 と FPR2 という例外は存在するものの、リガンドの結合様式と系統分類は密接に関連していると言えるだろう。この相関関係は、未だ構造が解明されていない脂質 GPCR のリガンド結合様式を、系統分類から大まかに予測する上で有用であると考えられる。実際に、本稿の執筆中に新たに構造が報告された DP1 は、 α branch に属することから polar-out タイプのリガンド結合様式を示すと予測されたが、実際に決定された構造はその予測と一致していた⁴⁵。しかしながら、依然として個々の受容体における正確なリガンド結合様式を解明するためには、実験的な構造を明らかにすることが不可欠であることに変わりはない。

第 5 章: おわりに

本稿では、近年のクライオ電子顕微鏡構造解析技術の目覚ましい発展に伴い大幅に拡充された構造情報に基づき、脂質 GPCR がもつ特徴的な lid 構造と gap 構造の再検証を行った。さらに、リガンド結合様式という切り口から独自の分類を提案するとともに、活性化機構や系統分類との相関についても議論を行った。2019 年からの約 6 年間で、単に構造が解明された受容体数が増加しただけでなく、内在性リガンドの結合様式、受容体の活性化機構、さらには三量体 G タンパク質との相互作用といった、X 線結晶構造解析が主流であった時代には得ることが困難であった知見が数多く蓄積された。これにより、脂質 GPCR の分子機構に対する我々の理解は、この数年で格段に深まったと言える。

一方で、依然として未解明な点も多く残されている。例えば、リガンドの侵入経路や、受容体の活性化状態やリガンド結合の有無によって lid 構造や gap 構造が示す構造変化といった分子のダイナミクスについては、2019 年当時と同様に、現在もなお分子動力学シミュレーション

ュレーションや変異体解析による間接的な検証が中心である^{26,29,34,36,45}。こうした分子のダイナミクスは、最も安定な状態のスナップショットを捉える現行の構造解析手法では本質的に解明が難しいのが現状である。この状況を打破するためには、近年注目されている時分割クライオ電子顕微鏡構造解析⁴⁶のような、分子の動態を直接捉える新たな手法の導入が、今後のブレークスルーに繋がると期待される。

最後に、本稿を執筆するきっかけとなったのは、2019年に本アーカイブで公開された谷口氏の総説の存在に他ならない。筆者が自身の研究対象である FFA2 から脂質 GPCR 全体へと視野を広げ、そのリガンド認識機構や活性化機構の多様性について考察を深めていた時期に、偶然谷口氏の総説を見つけた。当時すでに公開から数年が経過していたものの、その内容は脂質 GPCR を考える上での重要な土台となる知見が集積されていたことから、筆者が脂質 GPCR について学び、考察を行う上で大いに参考にさせていただいた。こうした経緯から、本アーカイブ執筆の機会をいただいた際には、半ば使命感のようなものを感じ、谷口氏の総説のアップデート版として本稿を執筆するに至った。筆者にとって谷口氏の総説がそうであったように、本稿が脂質 GPCR の研究に関わる方々にとって、その全体像を把握するための一助となれば幸いである。

文献

1. Shimizu, T. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **49**, 123–150 (2009).
2. Murakami, M. *Exp. Anim.* **60**, 7–20 (2011).
3. Krishna Deepak, R. N. V., Verma, R. K., Hartono, Y. D., Yew, W. S. & Fan, H. *Pharmaceuticals* **15**, 12 (2022).
4. Taniguchi, R. *PSSJ Arch.* **12**, e094 (2019).
5. Zhang, M. *et al. Signal Transduct. Target. Ther.* **9**, 1–43 (2024).
6. Kugawa, M. *et al. Nat. Commun.* **16**, 2809 (2025).
7. Berman, H. M. *et al. Nucleic Acids Res.* **28**, 235–242 (2000).
8. Hua, T. *et al. Nature* **547**, 468–471 (2017).
9. Morimoto, K. *et al. Nat. Chem. Biol.* **15**, 8–10 (2019).
10. Audet, M. *et al. Nat. Chem. Biol.* **15**, 11–17 (2019).
11. Ho, J. D. *et al. Nat. Commun.* **9**, 1645 (2018).
12. Meng, X. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **122**, e2423840122 (2025).
13. Qu, C. *et al. Sci. Adv.* **7**, eabf1268 (2021).
14. Huang, S.-M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **120**, e2216329120 (2023).
15. Wu, C. *et al. Nat. Commun.* **14**, 2668 (2023).
16. Xiong, Y. *et al. Cell Res.* **34**, 232–244 (2024).
17. Xu, P. *et al. Nat. Struct. Mol. Biol.* **29**, 863–870 (2022).
18. Liu, S. *et al. Nat. Commun.* **13**, 731 (2022).
19. Yu, L. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **119**, e2117716119 (2022).
20. Chen, H. *et al. Sci. Adv.* **8**, eabn0067 (2022).
21. Zhao, C. *et al. Cell Res.* **32**, 218–221 (2022).
22. Wang, N. *et al. Nat. Commun.* **13**, 1156 (2022).
23. Xu, J. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **121**, e2403304121 (2024).
24. Lin, H. *et al. Science* **388**, eado4188 (2025).
25. Jiang, M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **122**, e2417148122 (2025).
26. Kumari, P., Inoue, A., Chapman, K., Lian, P. & Rosenbaum, D. M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **120**, e2219569120 (2023).
27. Li, F. *et al. Cell Res.* **34**, 323–326 (2024).
28. Liu, G., Li, X., Wang, Y., Zhang, X. & Gong, W. *PLOS Biol.* **21**, e3002387 (2023).
29. Claff, T. *et al. Nat. Commun.* **16**, 1973 (2025).
30. Wang, J.-L. *et al. Nat. Metab.* **5**, 1726–1746 (2023).
31. Liang, J. *et al. Nat. Commun.* **14**, 1012 (2023).
32. Duan, Y. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **122**, e2415426122 (2025).
33. Yin, H. *et al. Cell Chem. Biol.* **31**, 1899–1908.e5 (2024).

- 34. Fan, W. *et al. Cell Rep.* **43**, 114422 (2024).
- 35. Mao, C. *et al. Science* **380**, eadd6220 (2023).
- 36. Liu, H. *et al. Nat. Commun.* **14**, 3271 (2023).
- 37. Rinne, M., Tanoli, Z.-U.-R., Khan, A. & Xhaard, H. *Sci. Rep.* **9**, 7058 (2019).
- 38. Bjarnadóttir, T. K. *et al. Genomics* **88**, 263–273 (2006).
- 39. Kimura, I., Ichimura, A., Ohue-Kitano, R. & Igarashi, M. *Physiol. Rev.* **100**, 171–210 (2020).
- 40. Geraldo, L. H. M. *et al. Signal Transduct. Target. Ther.* **6**, 45 (2021).
- 41. Audet, M. & Stevens, R. C. *Protein Sci.* **28**, 292–304 (2019).
- 42. Hanson, M. A. *et al. Science* **335**, 851–855 (2012).
- 43. Zhou, Q. *et al. eLife* **8**, e50279 (2019).
- 44. Xia, A. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **120**, e2308435120 (2023).
- 45. Xu, J. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci.* **122**, e2501902122 (2025).
- 46. Papasergi-Scott, M. M. *et al. Nature* **629**, 1182–1191 (2024).
- 47. Lemoine, F. *et al. Nucleic Acids Res.* **47**, W260–W265 (2019).
- 48. Lomize, A. L., Todd, S. C. & Pogosheva, I. D. *Protein Sci.* **31**, 209–220 (2022).



このコンテンツはクリエイティブ・コモンズ 表示 - 非営利 - 改変禁止 4.0 国際 ライセンスの下に提供されています。

© 日本蛋白質科学会 2025 Licensed under クリエイティブ・コモンズ 表示 - 非営利 - 改変禁止 4.0 国際 ライセンス