

京都大学	博士 (工学)	氏名	香 西 大 輔
論文題目	<p style="text-align: center;">Chemical biological studies on oxidation status-sensitive calcium channels (酸化状態感受性カルシウムチャネルの化学生理学的研究)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) や一酸化窒素 (NO) をはじめとする活性酸素種・窒素種は、酸化性の活性分子種群である。これら活性分子種は、内在性の酵素群によって産生され、シグナル伝達物質として血管拡張、炎症等、広範な生理応答や炎症性疾患等の病態を制御する。活性酸素種や活性窒素種による生理・病態応答は、酸化感受性タンパク質群を介して制御されていることが知られているが、それに関する知見は未だ不十分である。本論文は、近年、酸化感受性を有することが報告された Ca<sup>2+</sup>透過性の非選択的陽イオンチャネルである TRP チャネル (M, C, V, A サブファミリー) に注目し、その機能解析を行った結果をまとめたものであって、4章からなっている。</p> <p>序論では、酸化力を有する活性分子種のシグナル伝達物質としての重要性、TRP チャネルの酸化感受性に関する先行研究の現状等がまとめられている。</p> <p>第1章では、酸化感受性 TRP チャネル群の中でも、TRPA1 特有の機能を同定している。酸化感受性 TRP チャネルの多く (TRPC5, C1, C4, V1, V3, V4, A1) は活性分子種によるシステイン残基の酸化修飾を介して活性化されることが知られていた。本章では、酸化還元電位を計測して酸化力を定量したシステイン反応性のジスルフィド化合物ライブラリーを作成して、ジスルフィド化合物に対する各酸化感受性 TRP チャネルの Ca<sup>2+</sup>応答を調べることで、TRPA1 が顕著に高い酸化感受性を有することを明らかにしている。さらにこの結果から、TRPA1 が酸化力の弱い酸素によっても活性化されることを見出し、TRPA1 は迷走神経系において酸素濃度の変化 (高および低酸素) を感知する新規酸素センサータンパク質であることをつきとめている。</p> <p>第2章では、NO によりシステイン残基の S-ニトロシル化を介して活性化される酸化感受性 TRP チャネル群において、サブタイプ選択的な S-ニトロシル化を引き起こす手法を開発している。NO は血管拡張作用を有するガス状分子であることから、NO を遊離する化合物は狭心症等に対する治療薬として用いられる。しかし、NO の分子標的は TRP チャネルのはじめとして多数存在していることから、NO を遊離する治療薬ではその標的選択性の低さが問題となる。そこで本章では、TRP チャネルサブタイプ選択的な S-ニトロシル化の達成を目的としている。NO を遊離する化合物では TRPC5, C1, C4, V1, V3, V4, A1 の活性化が確認された一方で、NO を遊離しないトランスニトロシル化反応を介して S-ニトロシル化修飾できる新規化合物 (7-azabenzobicyclo[2.2.1]heptane 骨格を有するニトロソアミン) を用いることで、TRPA1 が選択的に活性化されることを見出している。また、生化学・薬理学的実験を行い、新規化合物による TRPA1 の活性化はトランスニトロシル化反応を介したシステイン残基の S-ニトロシル化修飾を介していることを実証している。さらに、このサブタイプ選択性には新規化合物の骨格構造が重要であることも示している。以上のように、本章では、新規化合物を用いることで TRPA1 選択的な S-ニトロシル化を可能にしていることから、本成果は NO の生理機能に着目した新規薬剤の創生の足がかりになることが期待される。</p> <p>第3章では、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 感受性を有する TRPM2 に注目し、TRPM2 が炎症性疾患である関節リウマチの悪化に重要であることを明らかにしている。関節リウマチは、関節軟骨基質の主成分である II 型コラーゲンに対する自己抗体の産生に伴う自己免疫応答によ</p>			

京都大学	博士 (工学)	氏名	香 西 大 輔
<p>             って、関節局所での過剰な炎症により、関節や骨に損傷をきたす疾患であり、炎症症状の悪化、慢性化の分子機序の解明は急務である。関節炎症部位では活性酸素種が産生されていると言われていたことから、本章では、免疫細胞に発現しており酸化感受性を有する TRPM2 の関与の検証を目指し、コラーゲン抗体誘発性の関節リウマチモデルを <i>wild-type</i> マウスと <i>Trpm2</i> 遺伝子欠損マウスに適用して症状を比較している。その結果、<i>Trpm2</i> 遺伝子欠損マウスでは、四肢の腫れ、関節腔への炎症性細胞の浸潤、骨の損傷といった各種関節リウマチ症状が <i>wild-type</i> マウスよりも大きく抑制されることを四肢の肥厚測定、関節組織標本解析、X 線 CT スキャンを用いて見出している。また、<i>Trpm2</i> 遺伝子欠損マウスでは、関節リウマチの増悪を促すサイトカインと呼ばれるタンパク質群の産生量が <i>wild-type</i> マウスに比べて大きく減少していることを示している。以上より、本章は、酸化感受性 TRPM2 は関節リウマチを悪化させる働きがあることを示し、関節リウマチの新規治療薬の標的としての TRPM2 の可能性を強く示唆している。           </p> <p>             第 4 章では、TRP ファミリーには属さないが、Ca<sup>2+</sup>チャネルとして知られる ORAI1 の酸化感受性を示している。ORAI1 は小胞体内の Ca<sup>2+</sup>枯渇を感知し活性化する形質膜上の Ca<sup>2+</sup>チャネルである。本章では、ORAI1 が酸化感受性を有しており、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による特定のシステイン残基 (Cys195) の酸化を介して ORAI1 の活性が抑制されることを示している。さらに、ORAI1 は免疫細胞であるヘルパー T 細胞の酸化感受性に重要であることを示している。           </p> <p>             以上、本論文は、酸化感受性 TRP チャネル等の機能について実験を行い、TRPA1 及び TRPM2 等の新しい薬理的・生理学的機能を明らかにしており、結論では、本論文で得られた成果について要約している。           </p>			

氏名	香西大輔
----	------

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、活性酸素種・窒素種が担う広範な生理・病態応答を、酸化感受性 TRP チャンネルが担う役割の解明を切り口に追究した成果についてまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. 酸化的システイン修飾を介して活性化される酸化感受性 TRP チャンネル群の中でも、TRPA1 が極めて高い酸化感受性を有することを示した。さらに、TRPA1 が酸化力の弱い酸素によっても活性化される新規酸素センサータンパク質であることをつきとめた。
2. NOによってシステイン残基の S-ニトロシル化を介して活性化される酸化感受性 TRP チャンネル群において、サブタイプ選択的な S-ニトロシル化を誘導する手法を開発した。即ち、NO を遊離しないトランスニトロシル化反応を介して S-ニトロシル化修飾できる新規化合物を用いることで、TRPA1 を選択的に S-ニトロシル化して活性化させることに成功した。また、この選択性に重要な化学構造も示した。
3. TRPM2 が炎症性疾患である関節リウマチの悪化に関わっていることを明らかにした。即ち、*Trpm2* 遺伝子を欠損させたマウスに関節リウマチモデルを適用したところ、関節での炎症や骨の破壊、炎症性タンパク質群の産生等の関節リウマチ症状が進展しなかった。
4. ORAI1 の活性が H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> により抑制されるという、ORAI1 の酸化感受性を明らかにした。

以上、本論文は、酸化感受性の TRPA1 及び TRPM2 等の新規薬理的・生理学的機能について述べたものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、無期限に当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公開可能日： 26年 6月 24日以降