

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 薬学 )	氏名	宇田 篤史
論文題目	小胞体における新規タンパク質の生理機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞内における <math>\text{Ca}^{2+}</math> は細胞内情報伝達のセカンドメッセンジャーとして機能しており、細胞内 <math>\text{Ca}^{2+}</math> 濃度の変動は、筋収縮や神経伝達物質の放出などの多くの細胞機能の調節に重要な役割を果たしている。そのため、細胞内の <math>\text{Ca}^{2+}</math> 濃度は厳密に制御される必要があり、<math>\text{Ca}^{2+}</math> 貯蔵庫である小胞体はその制御に重要な役割を担っている。しかし近年、小胞体に局在する機能未知の新規分子が数多く発見されており、その生理機能については未だ不明な点が多い。そこで申請者は、小胞体に局在して <math>\text{Ca}^{2+}</math> 制御に重要な役割を果たしていると予想される候補分子に着目し、その生理機能を解明するため研究を行った。以下に得られた知見について記す。</p>			
第一章 記憶学習と神経可塑性における BSRPs の重要性			
<p>Brain Specific Receptor-like Protein (BSRP) は、当研究室においてシグナルシーケンストラップ法を用いた探索により中枢神経系から見出された新規分子である。BSRP は I 型 1 回膜貫通タンパク質ファミリーであり、BSRP-A、-B 及び C (BSRPs) と命名された 3 つの遺伝子産物から構成される。BSRPs は脳特異的に発現しており、BSRPs を欠損した 3 種同時欠損 (BSRP-TKO) マウスは、小脳において <math>\text{PKC}\alpha</math> のリン酸化レベルの低下を示した。しかしながら、中枢神経系における BSRPs の重要性や役割については未解明であった。申請者は、シナプス可塑性の研究が活発に進められている海馬に着目して、海馬依存性が高いとされる記憶学習試験を行った。その結果、BSRP-TKO マウスは新規物体に対する認知記憶障害を示すと共に、瞬目反射条件付け試験では顕著な記憶学習障害を示した。また、BSRP-TKO マウスは記憶学習の神経基盤とされる長期増強 (long-term potentiation : LTP) の誘導及び維持の低下を示した。さらに、LTP の発現に深く寄与している <math>\text{CaMKII}</math> や <math>\text{PKC}</math> などの細胞内情報伝達分子のリン酸化レベルの増大が BSRP-TKO マウスにおいて観察された。以上の結果は、BSRPs が個体レベルでの記憶学習に加え、<math>\text{Ca}^{2+}</math> シグナリングを介するシナプス可塑性の形成に必要な不可欠な分子であることを示唆するものである。</p>			
第二章 TRIC-B による肝グリコーゲンの代謝調節機構			
<p>Trimeric intracellular cation (TRIC) チャネルは、小胞体に局在する 3 回膜貫通タンパク質であり、TRIC-A 及び B の 2 種類のサブタイプが存在する。TRIC-A 及び B を共に欠損したマウスの生理的解析から、TRIC チャネルは小胞体からの <math>\text{Ca}^{2+}</math> 放出と同期して小胞体に生じる負電荷を中和するカウンターイオンチャネ</p>			

ルとして、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度調節に重要な役割を果たしていることが明らかにされている。一方、TRIC-B 欠損 (TRIC-B KO) マウスは、肺においてグリコーゲンの貯留を示し、肺胞拡張障害に起因した呼吸不全により出生直後に死に至る。しかし、TRIC-B によるグリコーゲンの代謝調節機構については不明であった。新生仔期において、肝臓のグリコーゲンはグルコースの供給源として非常に重要な役割を果たしている。また、組織普遍的に発現する TRIC-B が新生仔期の肝臓においても豊富に発現していることを認めたため、肝臓に着目して研究を進めた。そこで、肝臓のグリコーゲン量について組織学的及び生化学的に解析したところ、TRIC-B KO マウスの肝臓において顕著なグリコーゲンの貯留を認めた。肝臓でのグリコーゲン代謝は、内分泌ホルモンにより調節されており、 $\text{IP}_3$  受容体を介した小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  放出と細胞内 cAMP 量を介する様式により調節される。しかし、TRIC チャンネルのカウンターイオンチャンネルとしての機能から cAMP を介する様式ではなく  $\text{Ca}^{2+}$  変動の異常が疑われた。そこで、肝初代分散培養細胞を用いた  $\text{Ca}^{2+}$  測光法により  $\text{Ca}^{2+}$  変動について調べたところ、TRIC-B KO マウス由来肝細胞において小胞体を介する  $\text{Ca}^{2+}$  放出量の増大が観察された。また、細胞内の cAMP 量には変化は認められなかった。さらに、グリコーゲン代謝の分解抑制と合成亢進を認めたことから、TRIC-B が寄与する小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  放出が肝臓のグリコーゲン代謝を制御しているものと考察された。

以上、本研究は小胞体に局在する新規分子が  $\text{Ca}^{2+}$  を介して生理機能を制御することを示すものであり、小胞体の生理機能を詳細に理解する上で重要な知見を与えるものである。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、小胞体に局在する新規タンパク質の生理機能を解析したものである。得られた成果は次の通りである。

(1) 中枢神経特異的に局在する新規小胞体タンパク質 BSRPs の中枢神経系における寄与についての解明を行った。BSRP-TKO マウスを用いた解析から、BSRPs が個体レベルでの記憶学習行動に必要な役割を果たしていることが明らかになった。また、BSRP-TKO マウスは、高次脳機能の細胞レベルでのモデル系として確立されている LTPと共に、細胞内での  $Ca^{2+}$  シグナルに関する異常を示したことから、シナプス可塑性の形成に深く寄与していることが明らかとなった。

(2) TRIC-B KO マウスを用いた解析から、新生仔期のグルコース供給源である肝臓のグリコーゲン代謝に TRIC-B チャンネルが深く寄与していることを明らかにした。TRIC-B KO マウスの新生仔期の肝臓において観察されたグリコーゲンの貯留は、グリコーゲン分解を調節するグリコーゲンホスホリラーゼキナーゼの活性抑制とグリコーゲン合成を調節するグリコーゲンシンターゼの活性亢進によることが示された。さらに、小胞体を介する  $Ca^{2+}$  放出量の低下が明らかにされたことから、新生仔期の肝臓においても TRIC-B が、 $IP_3$  受容体による  $Ca^{2+}$  放出に同期したカウンターイオンチャンネルとして生命現象に深く寄与していることが明らかにされた。

以上、本論文では、異なる組織において小胞体に局在する新規のタンパク質が、生理機能を制御することを示すものであり、小胞体の生理機能を詳細に理解する上で重要な知見を提示した。

よって本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成22年3月3日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：平成 年 月 日以降