

## 学 位 審 査 報 告 書

(ふりがな) 氏 名	アリザ トービー エーリック <b>Aliza Toby Ehrlich</b>
学位 (専攻分野)	博 士 ( 生命科学 )
学 位 記 番 号	生 博 第 号
学位授与の日付	平成 25 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	生命科学研究科 高次生命科学専攻
(学位論文題目)	<p>The dissection of the molecular mechanism underlying the facilitative action of prostaglandin E receptor EP1 on dopamine D1 receptor-induced cAMP production (ドパミン D1 受容体による cAMP 産生におけるプロスタグランジン E 受容体 EP1 の促進的作用を担う分子機構の解明)</p>
論 文 調 査 委 員	(主査) 垣塚 彰 教授 渡邊 大 教授 松崎 文雄 教授

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	Aliza Toby Ehrlich
論文題目	The dissection of the molecular mechanism underlying the facilitative action of prostaglandin E receptor EP1 on dopamine D1 receptor-induced cAMP production (ドパミンD1受容体によるcAMP産生におけるプロスタグランジンE受容体EP1の促進的作用を担う分子機構の解明)		
(論文内容の要旨)			
<p>従来、G蛋白質共役受容体 (GPCR) のシグナル伝達は、固有のG<sub>α</sub>サブユニットを介して惹起される、比較的単純な過程と考えられてきた。しかし、G<sub>α</sub>サブユニットから遊離されるG<sub>βγ</sub>サブユニットもサブタイプ特異的にエフェクター分子を制御することが示されている。cAMP産生を司るアデニル酸シクラーゼ (AC) はGPCRのエフェクター分子の一つである。全ての膜結合型ACアイソフォームはG<sub>αs</sub>サブユニットにより活性化されるが、G<sub>βγ</sub>サブユニットによる制御はアイソフォーム間で異なり、G<sub>βγ</sub>サブユニットにより促進や抑制されるACアイソフォームが存在する。このことは、GPCRの下流の複数のシグナル伝達が、共役するACアイソフォームにより異なる作用を発揮することを示唆している。複数のGPCRがヘテロマーを形成することはよく知られるが、近年、複数のGPCRの同期した活性化が、各GPCR単独とは異なるシグナル伝達を惹起する例が報告されている。しかし、この複数のGPCRの協調作用を担うメカニズムには不明な点が多い。</p> <p>ドパミンは、運動、情動、認知に関わる神経伝達物質であり、GPCRであるドパミン受容体を介して作用を発揮する。ドパミン受容体は薬理的にD1様受容体、D2様受容体に大別され、それぞれ、cAMP産生の増加あるいは減少を誘導する。ドパミン受容体のシグナル伝達効率は多くの脳内物質により制御される。炎症関連分子プロスタグランジン (PG) E<sub>2</sub>はその一つであり、GPCRであるPGE受容体を介して作用を発揮する。過去の研究から、PGE受容体サブタイプEP1の活性化が、線条体スライスでのドパミンD1受容体シグナル伝達や、ドパミンD1受容体アゴニストによる運動量亢進作用を増強することが報告されていた。申請者は、D1受容体とEP1受容体を共発現するHEK-293T細胞を用い、EP1受容体がD1受容体シグナル伝達を増強するメカニズムを解析した。まず蛍光免疫染色により、EP1受容体とD1受容体が部分的に共局在すること、さらに免疫沈降実験からEP1受容体とD1受容体が複合体を形成することを示した。EP1選択的アゴニストONO-DI-004の処理により、D1アゴニストであるSKF-81297やSKF-83822によるcAMP産生が増強した。このEP1刺激によるD1シグナル伝達増強は、EP1刺激による細胞内Ca<sup>2+</sup>上昇の阻害では影響を受けなかったが、G<sub>βγ</sub> scavengerであるG<sub>αi</sub>サブユニットの過剰発現により消失した。これに合致し、G<sub>βγ</sub>サブユニットにより増強されるACアイソフォーム、AC7の発現抑制により、EP1によるD1シグナル伝達増強は消失した。一方、D1単独刺激によるcAMP産生は、AC7発現抑制やG<sub>αi</sub>過剰発現では影響を受けず、別のACアイソフォーム、AC6の発現抑制により減弱した。</p> <p>以上の結果は、EP1受容体がD1受容体とヘテロマーを形成し、EP1刺激がG<sub>βγ</sub>サブユニットを介してD1受容体をAC7に共役させることを示している。また、D1受容体単独と、EP1受容体と複合体を形成したD1受容体では、共役するACアイソフォームが異なることが示唆され、GPCRヘテロマーのシグナル伝達におけるACアイソフォームの重要性を示した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

GPCRのシグナル伝達は主に各GPCRに特異的に共役する $G_\alpha$ サブユニットにより惹起されるが、 $G_\alpha$ サブユニットから遊離される $G_{\beta\gamma}$ サブユニットもシグナル伝達に寄与する。通常、 $G_\alpha$ サブユニットと $G_{\beta\gamma}$ サブユニットは、それぞれ独自のエフェクター分子を介して並列なシグナル伝達を惹起すると考えられているが、この両者により統御を受けるエフェクター分子も存在する。cAMP産生を担うアデニル酸シクラーゼACはその一つである。全ての膜結合型ACアイソフォームが $G_{\alpha_s}$ サブユニットにより活性化される一方で、 $G_{\beta\gamma}$ サブユニットによる制御はアイソフォーム間で大きく異なっており、促進されるもの、抑制されるもの、制御を受けないものが存在する。このACアイソフォームの特性は、GPCRの下流の複数のシグナル伝達の相互作用の様式を規定する可能性があるが、十分に検討されていない。近年、複数のGPCRがヘテロマーを形成し、各GPCR単独とは異なるシグナル伝達を活性化する事例が示された。このGPCRヘテロマー特異的なシグナル伝達は、副作用を軽減した新たな創薬標的としても注目されているが、そのメカニズムは不明である。本論文では、先行研究から線条体機能への関与が示されていた、プロスタグランジンE受容体EP1によるドパミンD1受容体シグナル伝達の増強作用のメカニズムを培養細胞のHEK-293T細胞で再現し解析した。この手法により、EP1受容体とD1受容体が複合体を形成すること、EP1刺激がD1活性化によるcAMP産生を増強すること、このEP1によるD1シグナル伝達増強作用が $G_{\beta\gamma}$ サブユニットと、 $G_{\beta\gamma}$ サブユニットにより増強されるACアイソフォーム、AC7を介することを証明した。一方、D1受容体単独刺激によるcAMP産生には $G_{\beta\gamma}$ サブユニットもAC7も関与せず、AC6という異なるACアイソフォームが関わることも明らかにした。

以上の結果は、EP1受容体とD1受容体のクロストークを例に、複数のGPCRの協調作用における特異的なACアイソフォームの意義を世界に先駆けて報告したもので、GPCRのシグナル伝達機構の多様性の理解に大きく寄与する。従って、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認め、平成25年8月2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： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日