

氏名(生年月日)	中 山 智 博 ナカ ヤマ トモ ヒロ
本 籍	
学 位 の 種 類	博士(医学)
学 位 授 与 の 番 号	乙第 2287 号
学 位 授 与 の 日 付	平成 16 年 10 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)
学 位 論 文 題 目	The regulatory domain of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is necessary to keep the channel domain closed: possible physiological significance of specific cleavage by caspase 3 (イノシトール 1,4,5-三リン酸受容体タイプ 1 の調節領域のチャネル開閉に対する機能と、caspase-3 による分解の意義)
主 論 文 公 表 誌	Biochemical Journal 第 377 卷 第 2 号 299-307 頁 2004 年
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 大澤真木子 (副査) 教授 高桑 雄一, 伊藤 達雄

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

イノシトール 1,4,5-三リン酸受容体タイプ 1 (IP3R1) は、2,700 残基以上のアミノ酸からなる巨大なチャネル蛋白質で、小胞体からのカルシウム放出を行う。IP3R1 蛋白質は大きく 3 つの領域に分けられる。すなわち、N 末端側約 600 残基からなるリガンド (IP3) 結合領域、C 末端側約 500 残基からなるチャネル領域、その間にある巨大な調節領域である。調節領域の中でも C 末端寄りには、caspase-3 で特異的に分解される部位が存在し、この分解により、IP3R1 の IP3 に応答したカルシウム放出能は阻害される。

本研究では、IP3R1 の構造機能相関および caspase-3 による分解の生理的意義を解明することを目的とした。

[対象および方法]

様々な IP3R1 の欠失変異体を培養細胞 (COS7 細胞および HeLa 細胞) に発現させ、細胞内カルシウム濃度変動に対する影響を検討した。IP3R1 の全長および欠失変異体には全て green fluorescent protein (GFP) を付加し、発現細胞の同定に利用した。

[結果]

チャネル領域のみからなる変異体、および caspase-3 による分解後に生じるチャネル領域と調節領域の一部を持つ変異体を発現させた細胞では、IP3 產生アゴニストや thapsigargin による細胞内カルシウム濃度上昇が顕著に阻害されていた。しかしこれらの状況下で、容量性カルシウム流入は観察された。

[考察]

これらの結果より IP3R の欠失変異体を発現した細胞では、カルシウムが常に漏出し続けていることにより細胞内カルシウムストアが常に枯渇していることが示唆された。IP3R 全長を発現した細胞ではこの現象は認められなかったことを考えると、IP3R のチャネル領域は常に開放されており、巨大な調節領域がチャネルを開鎖するのに必要であると考えられる。

また caspase-3 による分解後の変異 IP3R は、アポトーシスが生じている細胞に常に観察されるように、細胞内カルシウム濃度が上昇することに寄与していると考えられる。

[結論]

IP3R1 の構造機能相関および caspase-3 による分解の生理的意義を調べた。IP3R1 のチャネル領域のみからなる変異体、および caspase-3 による分解後に生じる変異体は、カルシウムを常に漏出し続けていた。このことは、

IP3R のチャネル領域は常に開放されており、巨大な調節領域がチャネルを閉鎖するのに必要であると考えられた。また、この IP3R 欠失変異体は、細胞内カルシウムストアを枯渇させる新しいツールとして使用できる可能性が示唆された。またこの機構を抑制するツールを開発することにより、アポトーシスを制御できる可能性がある。

論文審査の要旨

イノシトール 1,4,5-三リン酸受容体タイプ1 (IP3R1) は、チャネル蛋白質で、小胞体からのカルシウム放出を行う。同蛋白質は N 末端側のリガンド (IP3) 結合領域、C 末端側のチャネル領域、その間の調節領域の 3 領域からなる。調節領域の C 末端寄りには、caspase-3 で特異的に分解される部位が存在し、分解により、IP3R1 の IP3 に応答したカルシウム放出能は阻害されるという。本研究は、IP3R1 の構造機能相関と caspase-3 による分解の生理的意義の解明を目的として行われた。IP3R のチャネル領域は常に開放されており、調節領域はチャネル閉鎖に必要であることを明らかにした。この点で本論文は価値が高い。