

| | |
|--------------|--|
| Title | イノシトールポリリン酸5-ホスファターゼに関する研究 |
| Author(s) | 滝本, 浩一 |
| Citation | 大阪大学, 1989, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/36384 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

| | | | | |
|---------|-----------------------------|---------|---------|---------|
| 氏名・(本籍) | たき 滝 | もと 本 | こう 浩 | いち 一 |
| 学位の種類 | 理 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 第 | 8 5 5 8 | 号 | |
| 学位授与の日付 | 平成元年3月24日 | | | |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当 | | | |
| 学位論文題目 | イノシトールポリリン酸5-ホスファターゼに関する研究 | | | |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 | 中川 八郎 | | |
| | (副査) 教授 | 福井 俊郎 | 教授 | 浅野 朗 |

論文内容の要旨

イノシトールリン脂質代謝は、細胞外の情報を細胞内に伝える主要な機構の1つである。すなわち、ある種のホルモン、神経伝達物質、成長因子などが細胞膜に存在する受容体に結合すると、ホスホリパーゼCを活性化し、それを通じて細胞膜の成分であるホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸を分解し、ジアシルグリセロールとイノシトール1,4,5-三リン酸〔Ins(1,4,5)P₃〕を生産する。Ins(1,4,5)P₃は、さらにイノシトール1,3,4,5-四リン酸〔Ins(1,3,4,5)P₄〕となる。このようにして生じたIns(1,4,5)P₃およびIns(1,3,4,5)P₄は、アゴニストの刺激に対応して、細胞内のカルシウム濃度調節に関与するセカンドメッセンジャーとして作用すると考えられている。セカンドメッセンジャーは、刺激に対応して速やかに生成され、低濃度で生理作用を有すること、さらに速やかに消去されることがその条件である。この消去反応は、情報のスイッチをOFFにするばかりでなく、次なる新たな情報に対応するための準備という役割をも担っている。しかし、イノシトールリン脂質代謝を介する情報伝達系にはIns(1,4,5)P₃、Ins(1,3,4,5)P₄という2つの機能の異なるセカンドメッセンジャーの分解の調節機構は未だ不明である。Ins(1,4,5)P₃、Ins(1,3,4,5)P₄の分解を触媒する酵素は、可溶性および膜結合性の両画分に存在するが、可溶性酵素は血小板より精製され、Ins(1,4,5)P₃、Ins(1,3,4,5)P₄の両者を分解することが報告された。一方、膜酵素についても両者の分解活性が、いくつかの物質により同様に阻害されることから同一酵素により行われる可能性が示唆されている。そこで、私はこれら2種のセカンドメッセンジャー消去の調節的役割を明らかにする目的で、これら2種の分解を触媒する酵素、イノシトールポリリン酸5-ホスファターゼに関して研究をおこなった。ラット肝を用い本酵素の細胞内局在を調べたところ、ラット肝では、Ins(1,4,5)P₃、Ins(1,3,

4,5) P₄ 両者の分解活性の約80%が膜結合性であることが判明した。そこで、ラット肝ミクロソーム画分より膜結合性酵素の精製を行った。ミクロソーム画分を Triton X-100 を用い可溶化し、次いで種々のカラムクロマトグラフィーを行って、約500倍まで精製した。他方、可溶性酵素の精製は、ラット脳から行った。硫酸分画の後、DEAE-Cellulose カラムクロマトグラフィーを行うと、2種の酵素 (Type 1 と Type 11) が分離されたので、それぞれ種々のカラムクロマトグラフィーを用い、約470倍、約180倍まで精製した。

これら3種の精製酵素の酵素学的性質を比較検討した結果、膜結合性酵素は、可溶性 Type 1 と分子量 (32 KDa)、等電点 (pI 5.8-6.4)、至適 pH (pH 7.8)、基質特異性 [Ins (1,4,5) P₃ < Ins (1,3,4,5) P₄]、2価陽イオン要求性 (Mg²⁺ > Co²⁺) など酷似した性質を示すが、Type 11 は、分子量 (69 KDa)、至適 pH (pH 6.8)、基質特異性 [Ins (1,4,5) P₃ > Ins (1,3,4,5) P₄]、2価陽イオン要求性 (Mg²⁺ < Co²⁺) と前者と異なることが明らかになった。

これら性質の差を利用して各アイソフォームの臓器分布を調べた。膜結合性、可溶性両画分の活性および両者の比率は、臓器により非常に多様であった。次に、各臓器の可溶性画分をイオン交換カラムクロマトグラフィーを用い分析したところ、Type 1 は、多くの臓器に存在するが、Type 11 は脳に特異的に存在することが明らかになった。また肝、心臓には、脳にない活性のピークが認められたが、これらの画分の性質は Type 1 に類似していた。

さらに、脳内における各種アイソフォームの加齢に伴う変化を調べた結果、膜結合性、可溶性活性ともに発生に伴い各々約2.5倍、1.5倍に増加した。また、Type 11 は出産直後は、わずかしかな存在せず発生に伴い増加するが、Type 1 は加齢に伴い徐々に減少することが観察された。

イノシトールポリリン酸5-ホスファターゼには複数の分子種が存在し、それらが性質の違いから大きく2種のタイプに分類することができることを示した。一方は、Ins (1,3,4,5) P₄ に対しより親和性が高く多くの臓器に存在し、他方は、Ins (1,4,5) P₃ に特異的で脳に多い。これらのことは、前者は、代謝調節、細胞増殖などに、後者は、神経伝達に関連した情報伝達系に参与する可能性を示唆する。

論文の審査結果の要旨

細胞内への情報伝達系の一つとしてイノシトールリン脂質代謝回転の関与するものがある。すなわち、生体情報物質が細胞膜の外側に存在する受容体と結合すると、膜に内在するホスホリパーゼCが活性化され、イノシトールリン脂質を分解してイノシトール1,4,5-三リン酸(IP₃)を遊離する。このIP₃は小胞体に作用してカルシウムを細胞質に動員する一方、IP₃はIP₃キナーゼによってリン酸化を受け、イノシトール1,3,4,5-四リン酸(IP₄)に変化し、細胞外からのカルシウムの流入を促進する結果、細胞内に蓄積したカルシウムが生物反応を誘導するというものである。

本研究は、この情報伝達系による情報消去機構を解析するため、セカンドメッセンジャーであるIP₃,

IP₄ を分解するイノシトールポリリン酸5-ホスファターゼについておこなったもので、上記酵素が膜結合型と可溶型に分離されることを明かにした上で、両酵素を高度に精製し、反応動力学的性質を比較した。その結果、膜結合型酵素は脳を含む多くの臓器に存在し、IP₃、IP₄ を同様に分解する（したがってIP₄ はIP₃ の分解を抑制する）のに対して、細胞質型は、脳にのみ存在し、IP₃ のみを基質とするなど、両者の性質の差を明かにした。

更に、この研究成果を踏えて、多くの臓器ではIP₄ がIP₃ の分解を抑制してカルシウム動員を増加する機構が存在する可能性を示すと共に、IP₄ を分解しない酵素の脳機能に対する役割を示唆する等、細胞内への情報伝達機構の解析に重要な知見を提供した。よって本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。