

Title	Molecular heterogeneity and tissue distribution of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor
Author(s)	中川, 敏幸
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/38177
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	中川としゆき 幸
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 10619 号
学位授与年月日	平成 5 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	Molecular heterogeneity and tissue distribution of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor (イノシトール 1, 4, 5-三リン酸レセプターの多様性と組織分布)
論文審査委員	(主査) 教授 三木 直正 (副査) 教授 岡本 光弘 教授 遠山 正彌

論文内容の要旨

(目的)

中枢神経のみならず末梢組織における様々な生理機能発現さらに発生過程においてカルシウム (calcium:Ca) が重要な働きを担っている。細胞内 Ca 濃度は細胞外からの流入と細胞内 Ca 貯蔵庫からの放出により調節を受けている。細胞内 Ca 貯蔵庫に存在し, Ca 放出に関与している分子としてイノシトール 1, 4, 5-三リン酸レセプター (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor: IP3 receptor) が同定されている。IP3 はホルモンやニューロトランスミッターなど多くの物質の刺激により細胞内に放出され, 選択的にそのレセプターに結合することにより, IP3 依存性 Ca 放出を促す。この細胞内 Ca 調節に中心的役割を果たしている IP3 receptor は既にマウス小脳より精製され, 一次構造が決定されている。さらに四量体を形成することによりチャネル活性を持つと考えられている。また, 各組織において mRNA 及び蛋白質の大きさとしてほぼ同一分子の存在が明らかにされている。しかし, 組織により IP3 に対する親和性の違いがみられている。そこで本研究では, 中枢神経の発達過程及び末梢組織での IP3 receptor の構造を決定することにより, IP3 receptor の多様性と特異性を明らかにすることを目的とする。

(方法ならびに成績)

IP3 receptor は中枢神経系—特に小脳プルキンエ細胞—に豊富に存在するが, 末梢組織にも存在し, IP3 の親和性の違いが報告されている。本研究では, 組織特異的なサブタイプが存在を仮定し, 脳及び各組織より IP3 receptor の cDNA の単離, 解析を行った。

マウス小脳より単離された IP3 receptor の塩基配列をもとにプライマーを作製し, マウス各組織より抽出した mRNA から合成した DNA を鋳型として PCR (Polymerase Chain Reaction) を行った。増幅した DNA 標品をサブクローニングし, 塩基配列を決定した。塩基配列の解析により, 単一遺伝子から選択的スプライシングより生ずると考えられる欠失が二ヶ所 (segment I:SI, segment II:SII と命名) に認められた。SII はさらに複雑なスプライシングパターンを示した。SI は IP3 結合部位の近傍部, SII は Ca チャネル調節リン酸で, 二ヶ所の cAMP 依存性キナーゼによるリン酸化部位の間に存在した。

RNase プロテクション法を用い, 小脳発達過程, 中枢神経内各部位, 各組織におけるこれらサブタイプ mRNA の発現を解析した。小脳発達過程では, 生後 7 日頃より急激に増加し, InsP3 RSI が 12 日前後をピークにして漸減するのに対して, InsP3 RSI-はその後も増加を示した。生後 1 週から 2 週頃はプルキンエ細胞の樹状突起が発達し顆粒

細胞とシナプスを形成する時期に一致しており、発達特異的な発現パターンを示した。中枢神経内では、小脳、海馬、大脳皮質、脊髄の順に発現がみられ、各部位ごとにサブタイプの割合に違いを認めた。各組織では、SII が完全に欠失したサブタイプのみ存在し、また、成熟後は InsP 3 RSI/InsP 3 RSI- の比が小脳で小さいのに対して大きく、中枢神経と末梢組織との間に組織特異性を認めた。

サブタイプの脳内での分布を解析するために、In Situ ハイブリダイゼーション法を行った。サブタイプ特異的なオリゴヌクレオチドをプローブとした。小脳では末梢組織特異的に存在するサブタイプ (InsP 3 RSIIABC-) は存在せず、その他は全て存在した。海馬では全体を合わせると CA 1 領域に多く、各サブタイプごとに分布の違いを認めた。この結果、細胞レベルで IP 3 receptor の多様性が示唆された。

(総括)

選択的スプライシングによる IP 3 receptor サブタイプの存在、また中枢神経系、末梢組織での発達、組織特異的な発現、分布を明らかにした。以上の結果は、このサブタイプが homo 及び hetero な四量体形成により IP 3 親和性、磷酸化や ATP による Ca チャネル制御における多様性の発現に関与することを示すものである。さらに IP 3 receptor の多様性が各組織での様々な生理機能発現に重要であることを示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

本研究は、マウス脳及び末梢組織に発現している inositol 1, 4, 5 - trisphosphate receptor (IP 3 receptor) サブタイプの cDNA クローニングと一次構造の決定を行い、選択的スプライシングによると考えられる多様なサブタイプの存在を明らかにし、これらサブタイプが小脳で解析したら、発達特異的に、また組織特異的に発現することを証明した。

IP 3 receptor は細胞内カルシウム (calcium: Ca) 貯蔵庫の一つである小胞体に存在する Ca チャネルで、細胞内に Ca を放出することにより細胞の生理機能発現に重要な役割を果たしている。しかし、各組織に普遍的に存在する IP 3 receptor の組織特異的な分子に関しては全く不明であった。本研究は、脳及び末梢組織において IP 3 receptor が選択的スプライシングに基づく多様なサブタイプを有することを明らかにし、脳における発達特異的な変化、末梢組織における組織特異性を示し、多様な生理機能発現に IP 3 receptor の多様性が関与することを示唆しており学位論文に値するものと評価される。