

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | イノシトール1,4,5三リン酸受容体遺伝子ファミリーのマウス各種細胞・組織におけるタイプ特異的な発現  |
| Author(s)    | 藤野, 一郎  |
| Citation     | 大阪大学, 1994, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38908">https://hdl.handle.net/11094/38908</a>   |
| 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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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         | 藤野一郎   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学)   |
| 学位記番号      | 第 11254 号  |
| 学位授与年月日    | 平成6年3月25日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>医学研究科生理系専攻                             |
| 学位論文名      | イノシトール1,4,5三リン酸受容体遺伝子ファミリーのマウス<br>各種細胞・組織におけるタイプ特異的な発現 |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 三木 直正<br>(副査)<br>教授 遠山 正彌 教授 岡本 光弘          |

#### 論文内容の要旨

[目的] イノシトール1,4,5三リン酸(InsP3)受容体蛋白質(InsP3R)は細胞内小胞体膜に存在し、細胞内情報伝達系においてInsP3の結合により細胞内カルシウム貯蔵部位よりカルシウムを放出するチャンネルとして機能する。遺伝子クローニングにより、InsP3Rには従来知られていた中枢神経系、特に小脳プルキンエ細胞に豊富に存在するInsP3Rの他に、さらに二つのサブタイプ受容体が存在することが明らかとなった。現在ではInsP3Rには少なくとも三つの異なる遺伝子によりコードされたタイプ1、タイプ2、タイプ3受容体が存在することが知られるようになり、InsP3/Ca<sup>2+</sup>細胞内情報伝達系の多様性に関与するものとして興味を持たれている。InsP3R各サブタイプの種々の組織、細胞での発現分布については、マウス及びラット中枢神経系におけるタイプ1受容体の発現部位について、これまでに詳細な報告がなされてきた。しかし中枢神経系以外の組織については、特に新たにクローン化されたタイプ2、タイプ3受容体について、細胞レベルの詳細な発現部位は未だ殆ど明らかにされていない。本研究では先にクローン化したヒトInsP3Rタイプ2、タイプ3 cDNAのマウスホモログ cDNAを単離してプローブとして用い、それらのマウス各組織での発現と局在をノザンブロットハイブリダイゼーションおよびin situハイブリダイゼーション法により明らかにした。

[方法ならびに成績] 全長8404塩基対のヒトInsP3Rタイプ3 cDNAのうち、サブタイプ特異的な領域である[4714-5698]に相同な部分のマウスInsP3Rタイプ3 cDNA断片を常法に従いマウス小脳cDNAライブラリーより得た。また、全長10524塩基対のヒトInsP3Rタイプ2 cDNAのうち、サブタイプ特異的な領域である[4825-5777]に相同な部分のマウスInsP3Rタイプ2 cDNA断片をPCR法により得た。マウスInsP3Rタイプ1 cDNAのうち、サブタイプ特異的な領域である[4831-5443]をマウスInsP3Rタイプ1に対するプローブとして用いた。常法に従い10週齢ICRマウスの各種組織より精製したpoly(A)<sup>+</sup>RNAに対し、これらをプローブとしてノザンブロットハイブリダイゼーションを行った。その結果、InsP3Rは各組織でサブタイプ特異的な発現パターンを示した。従来のInsP3Rタイプ1が広範な組織で発現するのに比べ、InsP3Rタイプ2 mRNAは発現量は極めて低く、ノザンブロットハイブリダイゼーションでは唾液腺、腎臓等の限られた組織にのみ発現を認めた。InsP3Rタイプ3は小腸、膵臓、胃等で発現を認めた。InsP3Rタイプ1は、中枢神経系以外の組織では平滑筋に比較的豊富に発現することが知られており、ノザンブロットハイブリダイゼーションにおけるInsP3Rタイプ1の広範な組織での発現はこれに関連するものと考えられた。つぎにin situハイブリダイゼーション法によりInsP3R各サブタイプの細胞レベルでの発現部位を検討

した。10週齢ICRマウスより、4%パラホルムアルデヒド固定液(PFA)による心灌流後各種組織を摘出し、さらにPFAで処理した後、凍結切片を作製し用いた。前述の、サブタイプ特異的な配列を持つマウスInsP3Rタイプ2とタイプ3のcDNAを<sup>35</sup>Sで標識し、各サブタイプのセンス、およびアンチセンスRNAプローブを合成した。切片の前処理、ハイブリダイゼーション、オートラジオグラフィー等はすべて常法に従った。タイプ3受容体は胃腺、小腸上皮細胞、膵臓外分泌腺細胞等に顕著なシグナルの分布が認められた。腎臓、顎下腺、膵臓ランゲルハンス島等には散在する弱いシグナルが認められた。タイプ3受容体が分泌細胞で特徴的に発現することはこれらの細胞で刺激/分泌連関においてInsP3/Ca<sup>2+</sup>細胞内情報伝達系へのInsP3Rタイプ3の関与が示唆される。これらの組織において、タイプ1受容体は消化管平滑筋、腎血管平滑筋細胞等に主として分布し、タイプ3受容体とは分布のパターンが異なっていた。ノザンプロットハイブリダイゼーションで発現の認められた顎下腺で、タイプ2受容体は導管の上皮細胞に分布が認められた。タイプ2受容体はこのほかに腎尿細管や精巣上体導管上皮細胞、卵巣顆粒膜細胞等に分布を認めた。発現量の少ないタイプであるタイプ2受容体がこのような導管上皮細胞には特徴的に局在することは興味深い。

[総括] InsP3R遺伝子の各タイプのマウス組織における発現分布と、各タイプのmRNAの細胞局在を検討した。各タイプのInsP3Rはタイプ特異的なパターンで発現し、特徴ある細胞局在を示すことを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

イノシトール1,4,5三リン酸受容体は、イノシトールリン脂質/Ca<sup>2+</sup>細胞内情報伝達系において、細胞内カルシウム貯蔵部位より細胞質中にカルシウムを動員するチャンネルとして、重要な機能を果たしている。哺乳類のイノシトール1,4,5三リン酸受容体には、これまで三つの遺伝子サブタイプの存在が知られてきた。本研究は、各々のサブタイプ遺伝子の、マウス組織におけるタイプ特異的な発現分布と、各サブタイプの細胞局在を詳細に明らかにしたものである。従って本研究は、様々な細胞での細胞内Ca<sup>2+</sup>調節機構において、各々のイノシトール1,4,5三リン酸受容体サブタイプの果たす機能を解明するうえで、価値ある論文であることを認め、学位に価するものと思われる。