

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 善 本 亮

カルポニン (h1カルポニン) は分子量33-34kdaの塩基性タンパク質であり、分化した平滑筋細胞のアクチンフィラメント上に多く認められる。h1カルポニンがアクチン活性化ミオシンATPaseを抑制すること、またプロテインキナーゼCなどでリン酸化されたカルポニンはATPase活性を抑制しないことなどの知見より、h1カルポニンが平滑筋収縮に何らかの役割を担っていることが示唆されている。本研究は、2部に大別される。第1部は、h1カルポニン遺伝子欠損マウスを用いることによって平滑筋収縮におけるその生理学的役割を解明することを目的とした。第2部は、h1カルポニンのアイソザイムであるh2カルポニンとacidicカルポニンの生化学的性状についての検討を行い、これまで未解明な事象の多いカルポニンの生物学的全貌を明らかにすることを目的とした。

第1部 平滑筋収縮におけるh1カルポニンの役割：遺伝子欠損マウスを用いた研究

平滑筋収縮はミオシンリン酸化説で説明されているものの、筋収縮発生とミオシンリン酸化量の増加には時間的乖離が認められる。この乖離を説明するために、「脱リン酸化されたミオシンもアクチンと相互作用することができる」というラッチ説が提唱された。一方、生体内の様々なアゴニストで平滑筋を刺激すると、等張性KClによる収縮と比べて同程度のCa²⁺濃度の上昇で、より大きい収縮を引き起こす。また、一部のアゴニストはミオシンリン酸化量をほとんど上昇させないで収縮を発生させる。このようなミオシンリン酸化量と収縮の不一致はリン酸化説だけでは説明できず、それ以外の調節機構の存在を示唆するものである。そこでカルポニンがこの様な調節に関与する可能性を検討した。

野生型マウス (+/+) 及びh1カルポニン遺伝子欠損マウス (-/-) 由来の大動脈をKClで刺激すると、同程度の収縮張力が発生した。刺激後初期及び、後期でそれらのクロスブリッジの活性を検討すると、+/+は後期でその活性が低下しラッチ状態を示したが、-/-は後期になってもクロスブリッジの活性は高いままであった。なお、KClによる細胞内Ca²⁺濃度、ミオシンリン酸化量の変化には両者で違いは認められなかった。また、輸精管平滑筋をKClで刺激すると細胞内Ca²⁺濃度、リン酸化ミオシン量とも両者で同程度に上昇したが、最大筋短縮速度が-/-で有意に上昇していた。

大動脈を4種の受容体作動薬及びホルボールエステルで刺激すると、それぞれの薬物は+/+と-/-の間で同程度の張力を発生した。また、 α -toxinで脱膜化した回腸縦走筋においてGTP γ -S及びホルボールエステルによって引き起こされる収縮のCa²⁺感受性の増加について検討を行ったが、+/+と-/-の間でその違いは認められなかった。

以上の成績から、h1カルポニンがミオシンのアクチンからの解離を抑制することによって平滑筋収縮安定期のクロスブリッジ活性を低レベルに押さえていることが示唆された。また、アゴニスト収縮特異

的なh1カルボニンの制御機構は観察されなかった。

第2部 h2カルボニンおよびacidicカルボニンの性状

h2カルボニンおよびacidicカルボニンともF-アクチンに結合し、更にはCa²⁺依存的にカルモデュリンと結合することが明らかとなった。しかしながらその親和性はh1カルボニンと比較して低いことが明らかとなった。さらに、h2及びacidicカルボニンともに μ -カルパインによって加水分解を受けることが明らかになった。カルモデュリン存在下で同様の検討を行ったところどちらのカルボニンもカルモデュリン存在下、非存在下で分解パターン、速度に違いは認められなかった。一方、両アイソザイムのアクチン活性化ミオシンATPase活性に対する影響を検討した。両アイソザイムともATPase活性を抑制した。

以上の成績から、h2およびacidicカルボニンもh1カルボニンと生化学的に類似の性状を持つことが明らかとなった。これら3種類のカルボニンは組織間分布にはかなりの相違が認められることから、生体内ではそれぞれ固有の役割を果たしていることと思われる。

以上、本論文はこれまで未知の部分が多かったアクチン結合蛋白質カルボニンの機能を明らかにしたものであり、学術上・応用上貢献することが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の論文として価値あるものと認めた。