

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 周 虹

本研究の第一章では、最近注目されている細胞内 Ca^{2+} ストアの枯渇により活性化される Store-Operated Ca^{2+} Channels (SOCs) というチャネルの特異的な阻害剤を目指して、既知のストア依存性カルシウムチャネル阻害剤 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) と類似の構造を持つ 166 個の新規合成化合物 (2-APB アナログ) のスクリーニングを行った。すなわち、2-APB をリード化合物とするアナログ化合物の中から、より強力で選択的な阻害剤を見出し、細胞内カルシウム動態に対する作用を解析することを目的とした。その要約を下記に示す。

1. 166 個の 2-APB アナログ化合物をスクリーニングした結果、オリジナルの化合物である 2-APB より強力に SOC-mediated Ca^{2+} influx を阻害する化合物を見出した (ONO-IP-025, 083, 116, 163)。
2. これらの化合物は、イノシトール 3 リン酸 (IP_3) 受容体よりも 100 倍から 1000 倍程度 SOC に高い選択的阻害作用を持っていた。
3. これらの化合物を用いて解析した結果、アゴニスト刺激による細胞内 Ca^{2+} 振動の維持に、2-APB アナログに感受性を持つ Ca^{2+} 流入チャネル活性が必須の役割を果たしていることが示された。
4. 近年大きく注目されている SOC を介した細胞内 Ca^{2+} シグナリングメカニズムを明らかにする上で、本研究において見出された新規 SOC 選択的阻害剤の有用性が示された。今後、様々な細胞、組織において、多彩な細胞内 Ca^{2+} シグナリングへの SOC の関与や生理的役割の解明への応用が期待される。

本研究の第二章では、血管平滑筋における IP_3 受容体の役割に関する研究を行なった。まず、オリジナル化合物 2-APB よりも強力な IICR 阻害効果を示した新規 2-APB アナログ、ONO-IP-163 の IP_3 -induced Ca^{2+} release (IICR) 阻害作用を検討した。さらに、所属研究室 (医科学研究所、御子柴研究室) で近年確立された IP_3 受容体各サブタイプ (タイプ 1, 2, 3) のノックアウトマウスを用いて、血管平滑筋細胞収縮機構への IP_3 受容体の各サブタイプの関与について検討した。その要約を下記に示す。

1. 初代培養血管平滑筋細胞において ONO-IP-163 は 2-APB より低濃度で IICR を抑制した。

2. ONO-IP-163 は、摘出血管におけるアゴニスト誘発性血管収縮反応も抑制した。
これらの結果は、一部の 2-APB analogue は、SOCだけでなく、IICR 阻害剤としての作用も強く、組織レベルでも適用可能であることがわかった。今後、2-APB に代わる膜透過性 IP₃ 受容体阻害剤として有望である。
3. IP₃ 受容体各サブタイプのノックアウトマウスを用いた検討では、タイプ1ノックアウトマウスにおいては、Ca²⁺ シグナリング、血管収縮ともに他のタイプのノックアウトマウスに比べて減弱していた。この結果より、血管平滑筋収縮においては、タイプ1 IP₃ 受容体がより中心的に働いていることが分かった。
4. 蛋白質レベルではいずれの IP₃ 受容体サブタイプもマウス血管平滑筋に発現していたが、量的にはタイプ1が最も多く発現し、次いでタイプ3が多く、タイプ2の発現はかなり低いことが分かった。
5. 以上の結果は、交感神経系や血管収縮性ホルモンによる血管トーン調節の分子機構の一部としてタイプ1 IP₃ 受容体が重要な働きをしていることを示唆している。

以上、本論文では、新規に発見した Ca²⁺ チャンネルブロッカーや、近年確立された IP₃ 受容体ノックアウトマウスを用いることにより、細胞内における Ca²⁺ 振動現象の発現維持に SOCs が重要な役割を果たしていること、血管平滑筋収縮機能においてタイプ1 IP₃ 受容体が中心的に働いていることなどを明らかにした。したがって、本研究から得た知見は、生体機能維持に関与する Ca²⁺ シグナリングメカニズムの分子機構の解明に重要な貢献を果たすものであり、学位の授与に値するものと考えられる。