

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 商 信

本研究は、ホウ素を持つストア作動性カルシウム流入阻害薬を新たに開発し、それらの標的タンパク質の探索を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 2-APB は、ストア作動性カルシウム流入 (SOCE) の一般的な阻害薬として世界中で用いられている化合物であるが、本研究では 2-APB を改良し、2-APB と同じく分子内にホウ素を持つ様々な化合物を合成した。それらホウ素化合物の SOCE 阻害能を Jurkat T 細胞を用いて測定した結果、2-APB よりも 30 倍から 40 倍以上の SOCE 阻害能を持つホウ素化合物を多数開発することに成功した。また、それら強力な SOCE 阻害能を持つ一連のホウ素化合物は、2-APB の基本骨格であるジフェニルボリン酸エステルを 1 分子内に 2 つ持つ構造をしていることを見出した。
2. 本研究で開発したホウ素化合物の合成手順に関して、既存のホウ素化合物の合成法の問題点を指摘し、それらを改善するための新しい合成法を確立した。そして、実際にその合成法を応用することで、上記のホウ素化合物を短時間で高収率に合成することに成功した。
3. 得られた強力な SOCE 阻害能を持つホウ素化合物にビオチン基を導入した化合物 (ビオチン化 SOCE 阻害薬)、またホウ素化合物非依存的に結合するタンパク質を検出するためのネガティブコントロール化合物を合成した。それらの化合物を用いて、Jurkat T 細胞の可溶性画分中からタンパク質を分離した結果、SOCE 阻害薬選択的に分離されたタンパク質の中に、SOCE を活性化するタンパク質である STIM1 が存在することを見出した。
4. ビオチン化 SOCE 阻害薬の元となっている 2-APB は、IP₃ 誘導カルシウム放出 (IICR) も阻害するが、IICR を引き起こす分子実体である IP₃ 受

容体も、ビオチン化 SOCE 阻害薬により分離されることがわかった。しかし、IP₃受容体と複合体を形成している Homer-3 タンパク質は分離されなかった。

5. COS-7 細胞に、STIM1 または SOCE チャンネルである CRACM1 を強制発現し、それらのタンパク質をビオチン化 SOCE 阻害薬により分離した結果、STIM1 と CRACM1 の両者が分離された。また、STIM1 の変異体を用いて、STIM1 とビオチン化 SOCE 阻害薬が相互作用する大まかな部位も明らかにした。
6. 2-APB は TRPC チャンネルからのカルシウム流入を阻害するが、COS-7 細胞に発現させた TRPC1-7 は、全てビオチン化 SOCE 阻害薬により分離されることがわかった。
7. 論文に未提示のデータとして、本研究で合成したホウ素化合物が、STIM1 と CRACM1 の共発現により再構成された I_{CRAC}、さらには I_{ICR} を阻害することが示され、2-APB を含めたホウ素化合物は、阻害強度の差はあるが、共通の性質を持つことが示唆された。

以上、本研究は、2-APB を始めとするホウ素化合物が、2-APB により阻害される現象を担うタンパク質である STIM1、CRACM1、IP₃R、TRPC を、直接か間接かは不明であるが標的としていることをタンパク質レベルで初めて明らかにしたものである。また、本研究で開発した強力な SOCE 阻害薬は、第7項に記載したように、既に生理学の研究に応用されている。本研究は、ホウ素化合物の合成法からそれらが相互作用するタンパク質の解明までを一貫して行ったものであり、今後は本研究で得られた知見から、さらなるホウ素化合物型阻害薬の導出が期待される。以上のことから、本研究は、学位の授与に値するものと考えられる。