

# 博士学位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第 52 号

2023 年9月

京 都 産 業 大 学

— は し が き —

本号は、学位規則(昭和 28 年4月1日文部省令第9号)第8条の規定による公表を目的とし、令和5年9月 16日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第4条第1項によるもの(いわゆる課程博士)であり、乙は同条第2項によるもの(いわゆる論文博士)である。

---

---

# 目 次

---

---

## 課程博士

1. キム ゴウン	[博士(法政策学)] .....	1
2. <small>ウエガキ</small> 上垣 <small>カイク</small> 日育	[博士(生命科学)] .....	7
3. <small>フジイ</small> 藤井 <small>ショウヘイ</small> 唱平	[博士(生命科学)] .....	9

氏名(本籍)	藤井 唱平(兵庫県)
学位の種類	博士(生命科学)
学位記番号	甲生 第7号
学位授与年月日	令和5年9月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
論文題目	小胞体レドックスによるカルシウムイオンチャネル IP3 受容体の制御機構の解明
論文審査委員	主 査 潮 田 亮 准教授
	副 査 遠 藤 斗 志 也 客員教授
	// 棚 橋 靖 行 准教授

## 論文内容の要旨

小胞体は分泌タンパク質および膜タンパク質の成熟の場、カルシウムイオン( $\text{Ca}^{2+}$ )の細胞内貯蔵庫となるなど、様々な細胞機能を担うオルガネラである。本論文では、これらの機能を支える小胞体の環境がどのようにして維持されるのかについて、 $\text{Ca}^{2+}$ 環境と酸化還元(レドックス)環境に焦点を当て研究を行った。IP3 受容体(IP3R)は小胞体からサイトゾルに $\text{Ca}^{2+}$ を放出するチャネルの1つであり、IP3Rを介して放出される $\text{Ca}^{2+}$ は、さまざまな細胞機能の基本的なセカンドメッセンジャーとして働く。本研究では、レドックス環境とカルシウム恒常性の関係性の解明を目的とし、酸化還元酵素によるIP3Rの制御機構を解析した。ヒト胎児腎細胞を用いて、小胞体のPDIファミリータンパク質(PDIs)のうち活性が明らかな8種類とIP3R1との相互作用を共免疫沈降法により解析したところ、IP3R1と多くのPDIsの相互作用が示唆された。レドックス依存的なIP3Rの活性変化をおこす酸化還元酵素を探索するため、共沈降したPDIsとPDIs酸化酵素として知られるERO1Aの遺伝子欠損HeLa細胞をCRISPR-Cas9を用いて樹立し、IP3依存的な $\text{Ca}^{2+}$ 放出(IICR)への影響を $\text{Ca}^{2+}$ センサータンパク質YC3.6による $\text{Ca}^{2+}$ イメージングで検証した。遺伝子欠損によってIICRを低下させたERp46、PDI、ERO1Aはいずれも基質タンパク質の酸化に寄与する酵素であり、IP3R1の活性化にはPDI-ERO1を介した酸化力供給経路が重要であることが示唆された。また、IP3R1のレドックス状態は、ERdj5欠損細胞において酸化型に偏り、ERdj5の入れ戻しにより野生型と同様のレドックス状態に回復すること

を確認した。より詳細にチャネル活性を解析したところ、酸化型 IP3R1 は強いチャネル活性を持ち、還元型 IP3R1 は弱いチャネル活性を持つという小胞体のレドックスを介した自律的な制御機構が示唆された。以前の報告において、ERdj5 は小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の低下を感知し、ジスルフィド還元活性を用いて SERCA2b を還元することで小胞体への  $\text{Ca}^{2+}$  取り込みを促進すること、小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が高くなると ERdj5 は多量体化し、不活性化することを明らかにした。この制御と本研究の成果を合わせて、ERdj5 は小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度低下に応じて、IP3R の  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルと SERCA2b ポンプの両方を還元し、チャネルは抑制し、ポンプは活性化することで、小胞体から放出される  $\text{Ca}^{2+}$  を減らし、小胞体への  $\text{Ca}^{2+}$  の取り込みを増やすという合目的的な制御を担うカルシウム恒常性維持機構のキーファクターであることを明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、小胞体膜上に存在する四量体型カルシウムイオンチャネルである IP3 受容体の活性制御について、IP3 受容体の小胞体内腔の領域に着目し、IP3 受容体がつもつ 4 つのシステイン残基のチャネル活性への影響を解析している。IP3 受容体のシステイン変異体を用いた解析から、小胞体内腔領域ループ 2 つのシステイン残基がつくるジスルフィド結合の酸化還元(レドックス)状態に依存した制御によってチャネル活性が変化することを見出し、IP3 受容体の小胞体内腔領域ループの残りの 2 つのシステイン残基は IP3 受容体がチャネルとして機能するために必要な四量体形成に必須であることを明らかにした。さらに、IP3 受容体のレドックス制御に関わるタンパク質を明らかにするため、小胞体に存在する酸化還元酵素について CRISPR-Cas9 を用いた遺伝子欠損スクリーニングを行ったところ、活性化に必要な酸化酵素 ERp46 と抑制に必要な還元酵素 ERdj5 をそれぞれ同定することに成功した。

以前の報告において、ERdj5 は小胞体のカルシウムイオン濃度の低下を感知し、ジスルフィド還元活性を用いてカルシウムイオンポンプ SERCA2b を還元することで小胞体へのカルシウムイオン取り込みを促進することを明らかにした。この制御と本研究の成果を合わせて、ERdj5 が小胞体のカルシウムイオン濃度低下に応じて、IP3R の  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルと SERCA2b ポンプの両方を還元し、チャネルは抑制し、ポンプは活性化することにより、小胞体から放出されるカルシウムイオンを減らしながら、小胞体へのカルシウムイオンの取り込みを増やすという合目的的なカルシウム恒常性維持機構に寄与することを明らかにした。小胞体のレドックスによる IP3 受容体の制御機構の詳細が本研究によりはじめて明らかになり、今後、レドックス環境の破綻によって引き起こされる疾患の治療法解明につながる事が期待され、価値の高い研究内容であると判断できる。

本研究に関する内容は、米国の学術誌「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America(米国科学アカデミー紀要)」に掲載され、主査および副査から構成される博士論文調査委員による論文審査の結果、研究課題に新規性が認められること、作業仮説や実験方法に妥当性があること、結果の解釈や考察が適切に導かれていることから、本論文は博士学位論文としてふさわしいものであると認められた。また、令和 5 年 8 月 9 日に開催された公聴会では、発表内容は論理的かつ明瞭にまとめられており、質疑応答に対して的確に回答され

ていた。よって、申請者は当該分野に関する学力において、博士の学位に相応しい資格を有していることが確認できた。

以上、本論文は博士(生命科学)の学位を授与されるに値するものと認められる。