

カルシウムシグナル研究の先端的手法による展開

研究代表者：飯野正光（東京大学大学院医学系研究科）

講演要旨

カルシウムは、収縮、分泌、発生・分化、細胞増殖、免疫から学習・記憶まで極めて多彩でかつ重要な細胞機能を制御するシグナル分子である。細胞外から流入したり、あるいは細胞内ストアから放出されるカルシウムの細胞内濃度は、精緻な制御機構によって目的に応じた空間分布と時間変化をするように調節される。本研究では、二光子励起法、カルシウムストア内腔のカルシウムイメージング、ケイジド化合物法、ジーンターゲティング法などの先端的研究方法を組み合わせることにより、シナプス可塑性、分泌、免疫および収縮制御といった重要な生理機構におけるカルシウムシグナルを細胞と組織レベルで追究した。これによりカルシウム放出チャネルの分子機構を様々な観点から明らかにするとともに、カルシウムシグナルに関わる新たな分子群を発見した。また、画期的な研究法として、細胞内イノシトール三リン酸 (IP_3) 濃度の実時間測定法と、二光子励起顕微鏡法を用いた分泌機構観測系を確立して、新たな発見を行った。以上の成果により、中枢神経細胞、筋細胞、B細胞、外分泌腺細胞などにおけるカルシウムシグナル機構の分子メカニズムの理解を格段に進め、カルシウムシグナルと生理機能との関連を明らかにすることができた。

カルシウムシグナルのダイナミクスとその分子基盤

東京大学大学院医学系研究科・飯野正光

カルシウムシグナルが、様々な細胞機能制御に関与する理由には、このシグナルが、細胞内で多様な時間的・空間的な分布をつくり出すことが可能であること、が挙げられる。このようなカルシウムシグナル形成に、 IP_3 受容体およびリアノジン受容体を介する細胞内カルシウムストアからのカルシウム放出が重要な役割を果たしている。

IP_3 受容体は3つの遺伝子に由来するサブタイプが存在し、組織依存性に発現パタ

ーンが異なる。我々は、初めてサブタイプ毎のカルシウム放出機能を比較することに成功し、サブタイプ間に重要な機能的差異が存在し、組織ごとに異なるカルシウムシグナルをつくり出す原因となることを突き止めた。また、IP₃ 受容体はカルシウムによるフィードバック制御を受けるが、そのカルシウムセンサー部位を IP₃ 分子上に同定することに成功した。さらに、センサー機能を低下させる点突然変異を導入することにより、細胞内カルシウムシグナルに著しい影響が生じることを示し、フィードバック制御がカルシウムシグナル形成に必須であることを明確にした。

IP₃ 受容体上流のシグナル伝達機構を解明するため、IP₃ 自身の細胞内濃度の変動を単一細胞レベルで実時間測定できるシステムを開発した。これにより、細胞内 IP₃ 濃度も時間的・空間的分布をすることを初めて明らかになった。

カルシウムシグナルのダイナミクスがどのような生理的意義を持つかについても解析を進め、血管平滑筋において自発的なカルシウムオシレーション（カルシウムリップル）を発見した。また、B細胞においてB細胞受容体刺激に引き続くカルシウムシグナルが、SHIP や Lyn を介して、負のフィードバック制御を受けていることを明らかにした。

興奮性細胞のカルシウムシグナリングでは、リアノジン受容体を介する細胞内ストアからのカルシウム放出が重要な役割を果たしている。そこで、リアノジン受容体の生理機能及びその細胞内局在を規定する分子の同定に関する研究を遂行した。これにより、(1)心筋・骨格筋においてリアノジン受容体のカルシウム放出は、細胞障害を引き起こす細胞内ストアのカルシウム過剰貯留を抑制する生理機能を有すること、(2)シナプトフィジンファミリーに属するミツグミン 29 は、骨格筋において三つ組構造（表層膜と筋小胞体膜が近接する骨格筋の結合膜構造）周囲の精巧な膜構築の形成を規定すること、(3)ジャンクトフィリンは、表層膜と特異的に結合し小胞体膜を貫通することにより、結合膜構造の形成に寄与する分子であることなどを明らかにした。