

# 論文内容の要旨

申請者氏名 Riris Istighfari Jenie

心臓の収縮はリガンドが結合した $\beta$ アドレナリン受容体によるGタンパク質の一つであるGsの活性化、そして活性化されたGsの $\alpha$ サブユニット( $G\alpha_s$ )によるアデニル酸シクラーゼの活性化からcAMPの産生に至るシグナル伝達経路によりポジティブに調節されている。また、血流量の上昇や持続的な血圧上昇による恒常的な心機能の亢進は心肥大を起こすことが知られている。心肥大は高い頻度で心機能の不全を示し、急性の死に至る場合もある。慢性的な運動過多による心肥大、あるいは病的な心肥大に伴う $\beta$ アドレナリン受容体シグナル系の減弱が、心不全の一つの顕著な特徴である。

一方、別のGタンパク質であるGqと共役する $\alpha$ アドレナリン受容体を介するシグナルの過度の伝達により心肥大が起こることが知られている。Gqを介するシグナルが病的な条件化で起こる $\beta$ アドレナリン受容体による心筋細胞の収縮の抑制に関与し、また $G\alpha_s$ のユビキチン化の亢進に伴う $G\alpha_s$ の発現抑制が、そのメカニズムの一つではないかと考えられた。

本研究において、申請者はマウスの心肥大においてグローバルなユビキチン化が増加することを見出した。さらにラット新生児心筋細胞を用いた実験から $\alpha$ アドレナリン受容体の持続的な活性化に伴い、 $G\alpha_s$ のユビキチン化の亢進と $G\alpha_s$ の発現量の減少、さらに $\beta$ アドレナリン受容体によるcAMP産生の減少が認められた。また、持続的な $\alpha$ アドレナリン受容体シグナルの活性化だけではなく、 $G\alpha_q$ の過剰発現でも同様の効果が現れることが判明した。さらにGq共役受容体の活性化、あるいはGqの過剰発現によるGsシグナルの減少にはユビキチン-プロテアソーム系による $G\alpha_s$ の分解が関与することが明らかとなった。また、 $G\alpha_s$ 発現量の低下に伴うGsシグナルの減弱は $G\alpha_s$ と相互作用する内在性因子Ric-8Bによって抑制されることを明らかにした。Ric-8Bは $G\alpha_s$ のみならず $G\alpha_q$ とも直接相互作用することが知られており、またRic-8Bと結合することで $G\alpha_s$ のユビキチン化を阻害することも既に申請者のグループが見出している。そこで、細胞内および試験管内でRic-8Bと $G\alpha_s$ との結合に対して $G\alpha_q$ が競合するか検討を行ったところ、予想通り $G\alpha_q$ がRic-8Bと $G\alpha_s$ との結合を阻害することが明らかとなった。

以上の結果から、病的な肥大を示す心臓においてGqシグナルとGsシグナルのクロストークが原因となって心機能低下を引き起こす可能性が示唆された。具体的なモデルとして持続的なGqシグナルの活性化により $G\beta\gamma$ と介した $G\alpha_q$ が過剰に細胞内に存在することとなり、その結果、 $G\alpha_s$ の安定化作用を持つRic-8Bと結合してしまうため、Ric-8Bの $G\alpha_s$ 安定化作用が抑制され $G\alpha_s$ の発現抑制、ひいては $\beta$ アドレナリン受容体を介するcAMP産生量の減弱が起こる可能性が示唆された。このことは心機能低下の新しいメカニズムを提唱しています。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Riris Istighfari Jenie

Gタンパク質共役受容体 (G protein-coupled receptor, GPCR) を介するシグナル伝達は、神経系、循環器系、内分泌系、そして生体防御系を担う様々な組織や細胞において働いている。1000種類程あるGPCRはGs, Gi, Gq, G12の主に4つのグループに分けられるGタンパク質を介して、細胞内に情報を伝え、細胞機能を調節する。例えば心筋細胞において $\beta$ アドレナリン受容体はGsを活性化し、cAMPの産生を促進することで心臓を収縮させる。一方、同じ心筋細胞においてGqを活性化する $\alpha$ アドレナリン受容体の持続的な活性化は $\beta$ アドレナリン受容体を介した心筋収縮作用を減弱させることが知られているが、そのメカニズムは不明であった。また、Gqを介するシグナルの増強により心肥大となり、心不全を引き起こすことが知られているが、その機構もよくわかっていない。

申請者は、腹部大動脈を結索することで得られる心肥大マウスより摘出した心臓およびラット新生児由来心筋細胞を用いて以下のことを明らかにした。まず心肥大を起こした心臓ではグローバルなユビキチン化とGs複合体のユビキチン化の増加が起きていた。また心筋細胞を $\alpha$ アドレナリン受容体アゴニストで長期間処理すると $\beta$ アドレナリン受容体によるcAMP産生が減少するとともにGsの $\alpha$ サブユニット( $G\alpha_s$ )の発現量が低下していた。 $G\alpha_s$ と $G\alpha_q$ の両者と結合するRic-8Bを過剰に発現させると、 $\alpha$ アドレナリン受容体活性化に伴うcAMP産生の低下と $G\alpha_s$ 発現量の低下のいずれも抑制された。また、Ric-8Bの過剰発現により $G\alpha_q$ により誘導される $G\alpha_s$ のユビキチン化の阻害が観察された。Ric-8Bは $G\alpha_s$ と結合すると $G\alpha_s$ のユビキチン化とそれに伴う $G\alpha_s$ の分解を阻害することが申請者の研究室で先に見出されている。実際にRic-8Bと $G\alpha_s$ の結合が $G\alpha_q$ により阻害されるかどうか、細胞内での過剰発現系と試験管内でのリコンビナントタンパク質結合実験により検討した結果、Ric-8Bと $G\alpha_s$ との結合が $G\alpha_q$ により阻害されることが判明した。

これらの結果から、心筋細胞において $\alpha$ アドレナリン受容体が活性化されるとGqタンパク質の活性化が起こり細胞内で $G\beta\gamma$ と離れた $G\alpha_q$ が増加し、その $G\alpha_q$ がRic-8Bと $G\alpha_s$ との相互作用を妨害することで $G\alpha_s$ のユビキチン化と分解が進み、 $G\alpha_s$ のタンパク質量が減少するため心筋細胞における $\beta$ アドレナリン受容体を介したシグナルの減弱が起こるといふ新しい分子機構の存在が明らかとなった。

以上のように、本論文は心機能不全の原因となるGタンパク質シグナルのクロストークの新たな機構を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。