

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（学術）	氏名	濱本 明恵
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 摂食関連受容体 MCHR1 の細胞内分子メカニズム解明			
論文審査担当者 主査 教授 斎藤 祐見子 審査委員 教授 古川 康雄 審査委員 教授 石田 敦彦 審査委員 教授 船瀬 広三 審査委員 教授 児島 将康（久留米大学分子生命科学研究所）			
<p>〔論文審査の要旨〕</p> <p>G 蛋白質共役型受容体 (GPCR)は様々な行動の基盤となる膜蛋白質であり、創薬標的として極めて重要である。GPCR には Gq や Gi/o などの G 蛋白質が共役し、その種類により下流のシグナルが決まる。GPCR-G 蛋白質間の選択機構は解析が難しく、報告事例が非常に少ない。本論文は、この難問に対し、摂食や情動行動に関連するメラニン凝集ホルモン受容体 1 (MCHR1) を取り上げ、MCHR1 へ共役する G 蛋白質の種類がどのように決定付けられるか解明することを目的としたものである。本研究では、分子生物学・生化学・薬理学・細胞生物学に基づく多岐に渡る手法を組み合わせることにより、緻密な解析を行なった。</p> <p>本論文は、3 章からなる。第 I 章では、G 蛋白質選択機構解明の礎となる研究としてキンギョ MCHR の細胞内情報伝達系を解析した。その結果、キンギョ MCHR1 は主に Gq と共役することが判明した。一方、キンギョ MCHR2 では Gi/o 及び Gq 共役能を持つことが認められた。ラットやヒトの MCHR1 は Gi/o 及び Gq と共役し、ヒト MCHR2 は Gq と共役する。すなわち、本章において、哺乳類とキンギョ間では MCHR1 の G 蛋白質選択性が異なることを明らかにした。この成果を基に、第 II 章では、ラット MCHR1 のアミノ酸配列をキンギョ MCHR1 配列に順次置換することで、変異させたラット MCHR1 における Gi/o 共役能が消失する可能性を考えた。そして、細胞内ループ領域近傍に着目した多くの置換体を作製し、それぞれを細胞に一過性発現させて Gi/o 活性を評価した。細胞内カルシウム濃度測定の結果、Gq 活性に影響を与えることなく、Gi/o 活性低下を示す 2 つの置換体 (i2_6sub, i3_6sub) を同定した。i2_6sub は細胞内第 2 ループ領域のアミノ酸 6 残基を、i3_6sub は細胞内第 3 ループ領域の 4 残基及び第 5 膜貫通領域の 2 残基を同時に置換した置換体である。さらに、Gi/o 活性選択的な機能アッセイ及び統合的な細胞内応答を評価する新規アッセイ法 (DMR 手法) においても、i2_6sub と i3_6sub は Gi/o 活性低下が認められた。置換体の置換箇所のうち、アミノ酸 4 残基の置換では活性低下を示さないことから、複数のアミノ酸から形成される立体構造が Gi/o との選択的共役に重要であると推測された。第 III 章では、キンギョとラットの MCHR1 間で高度に保存されているアミノ酸配列に着目し、解析を進めた。その結果、細胞内 C 末端にあるフェニルアラニンをリシンへと置換した F318K は Gq 選択的に機能が亢進することを見出した。さらに、F318K-Gq 及び-Gi の 3 次元相同モデルから、F318K-Gq 間における水素結合が予測され、Gq 選択的な機能亢進を支持する結果を得た。GPCR 構造活性相関解析において、特定の 1 つのアミノ酸を別のアミノ酸へ点置換することにより、G 蛋白質に対する選択性が亢進した報告は今回が初である。</p> <p>本研究は、哺乳類 MCHR1 において Gi/o 又は Gq を選択的に活性化する際の構造動態の一端を明らかにしたものである。本成果は、他の GPCR における構造活性相関の研究に対しても重要な新知見をもたらし、高い学術的価値を有する。</p> <p>以上、審査の結果、本論文の著者は博士（学術）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。</p>			
備考 要旨は、1,500 字以内とする。			