

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	脊椎動物におけるホウ酸チャンネルの同定と輸送基質選択機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	潮和敬
Author(English)	Kazutaka Ushio
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11713号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:加藤 明,一瀬 宏,本郷 裕一,田中 幹子,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11713号, Conferred date:2022/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	潮 和敬	
論文審査 審査員		氏名	職名		
	主査	加藤 明	准教授	中戸川 仁	准教授
	審査員	一瀬 宏	教授		
		本郷 裕一	教授		
田中 幹子		教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「脊椎動物におけるホウ酸チャネルの同定と輸送基質選択機構の解析」と題し、動物細胞における細胞膜を介したホウ酸輸送機構の解明を目指し、ヒトや水棲動物におけるホウ酸チャネルを解析した論文であり、5章より構成されている。

第1章「序論」ではアクアポリン (AQP) について概説している。アクアポリンは水チャネルとして見出されヒトでは13種存在してファミリーを形成すること、そのファミリーには水のみを通過させる狭義の AQP、水の他にグリセロールや尿素などの小分子を輸送する aquaglyceroporin が存在すること、それぞれの AQP は皮膚、肝臓、腎臓、小腸、脂肪組織などで機能を担っていること、魚類など様々な脊椎動物に AQP は広く存在することなどを説明している。また植物のアクアポリンの1つである NIP5;1 がホウ酸チャネルとして機能すること、ヒトなど脊椎動物におけるホウ酸の機能や輸送機構の詳細については不明な点が多いことを説明し、脊椎動物におけるホウ酸輸送機構の解析の必要性を述べている。

第2章「ヒトにおけるホウ酸チャネルの同定」では、ヒト (*Homo sapiens*) AQP ファミリーのホウ酸輸送活性について、生化学及び生理学的な手法により、詳細に解析している。ヒト AQP1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 をそれぞれアフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、細胞の体積増加を指標に全てが水輸送活性を有し、AQP3, 7, 8, 9, 10 がグリセロール、尿素輸送活性を有するなど過去の報告と一致する活性を示したことを確認している。加えて AQP3, 7, 8, 9, 10 発現卵母細胞がホウ酸溶液中で体積を増加させることを見出している。AQP3, 7, 8, 9, 10 発現卵母細胞において細胞内ホウ素量の増加が見られることを誘導結合プラズマ質量分析法により確認し、また電気生理学的手法によりヒト AQP3, 7, 8, 9, 10 発現卵母細胞がホウ酸含有培地中で膜電位を変化させることなく細胞内 pH を低下させることを見出している。これらの結果からヒト AQP3, 7, 8, 9, 10 はホウ酸チャネル活性を持ち、またホウ酸は無電荷の $B(OH)_3$ の状態で輸送されるという結論に至っている。

第3章「アクアポリン 10 の生物系統特異的な輸送基質選択性の発見」では、他者が実施したトラフグ (*Takifugu rubripes*) AQP ファミリーの活性解析結果と第1章の結果を比較し、AQP10 の活性に種差が存在すると論じている。すなわち、ヒト AQP10 (HsAQP10) は水、グリセロール、尿素、ホウ酸を輸送するのに対し、トラフグ AQP10b (TrAQP10b) は水、グリセロールを輸送するものの、尿素、ホウ酸を輸送しないと説明している。そこで先ずゲノムデータベースを利用した分子進化学的な解析を行い、AQP10 遺伝子は同一起源に由来し脊椎動物種に広く存在すること、真骨魚類は3回目の全ゲノム重複で獲得した2つの paralog (AQP10a, 10b) を有することを示している。次に両生類のアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) AQP10 (XlAQP10) とゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) AQP10b (DrAQP10b) の活性解析を行い、XlAQP10 は HsAQP10 と同様に水、グリセロール、尿素、ホウ酸を輸送すること、DrAQP10b は TrAQP10b と同様に水、グリセロールを輸送するが尿素、ホウ酸を輸送しないことを示し、AQP10 の輸送基質選択性は四肢動物と真骨魚類との間では異なるが、それぞれの系統内では保存されていることを見出している。

第4章「アクアポリンの新たな輸送基質選択機構の解析」では、第2章から明らかになった四肢動物 AQP10 と真骨魚類 AQP10b の活性の違いを生み出す分子機序について解析を試みている。これまで、水を主に輸送する狭義の AQP と水とグリセロールなどを広く輸送する aquaglyceroporin の違いに着目した報告は多いが、aquaglyceroporin におけるグリセロール、尿素など水以外の基質選択に着目した研究は少ないため、四肢動物と真骨魚類の AQP10 の比較は有用なモデルになり得ると論じている。様々な脊椎動物に由来する AQP10 のアミノ酸配列のアライメントを作成し活性と関連することが期待されるアミノ酸残基を予測し、それらの点変異体の中から輸送基質選択性を変化させるものを探索している。計13種の変異体の解析から輸送基質選択性を変化させるいくつかの点変異を

見出し, 既に報告されている AQP10 の立体構造を基にそのメカニズムについて論じている。点変異による活性変化は期待したほど大きなものでは無かったことから, AQP10 の輸送基質選択機構は複数のアミノ酸が関与し合う予想以上に複雑なものであると結論付けている。

第 5 章「総合討論」では, 本研究で得られた結果とこれまでの知見を総合して論じている。先ずこれまでホウ酸チャネルが解析されてきた植物や海水魚に加え, ヒトなど四肢動物においても AQPファミリーがホウ酸チャネルとして機能することが明らかになったことから, AQPファミリーが種を超えてホウ酸輸送に係ると論じている。また AQP10 の系統間の活性の違いはアクアグリセロポリンの輸送基質選択機構の解明に有用であるが, その機序は予想よりも複雑なため今後のさらなる研究の必要性を論じている。

以上を要するに, 本論文は, これまで不明であった脊椎動物におけるホウ酸輸送機構に着目してヒト AQP3, 7, 8, 9, 10 がホウ酸チャネルとして機能することを初めて明らかにし, また AQP10 をモデルに輸送基質選択機構を解析したものであり, 理学上貢献するところが大きい。よって, 本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は, 東工大リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので, 公表可能な範囲の内容で作成してください。