【57】

氏　名(本　籍)	柴田　猛(秋田県)
学位の種類	博　士(学　術)
学位記番号	博甲第 1,489 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	STUDIES ON THE STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIP OF ANGIOTENSIN II TYPE 1 RECEPTOR (アンギオテンシンⅡタイプ1受容体の構造と活性相関に関する研究)

主　査	筑波大学教授	農学博士	村上和雄
副　査	筑波大学教授	農学博士	田仲可昌
副　査	筑波大学教授	理学博士	宗像英輔
副　査	筑波大学助教授	農学博士	宮崎　均

論文の要旨

アンギオテンシンⅡ（AⅡ）は生体内の血圧，体液量調節だけでなく，増殖因子として心肥大，動脈硬化などの病態との関連においても注目されているペプチドである。これらの機能は，複数種存在するAⅡ受容体サブタイプのうちタイプ1受容体（AT_1受容体）によって担われている。AT_1受容体は膜7回貫通型受容体であり，複数のGTP結合蛋白質（G protein）と会合することによって細胞内へシグナルを伝達することが知られている。AT_1受容体はG proteinの1つであるGqを介してホスホリパーゼCの活性化に伴うイノシトール3リン酸（IP_3）産生の促進と，IP_3による細胞内Ca^{2+}貯蔵部位からのCa^{2+}放出を誘引する。また，Giを介したアデニレートシクラーゼ活性の抑制によりcAMP量を減少させることが明らかとなっている。

本研究は，AT_1受容体が膜7回貫通型の構造を持つ受容体であることに着目し，G proteinと会合して細胞内にシグナルを伝達する際に，AT_1受容体のどの領域が重要であるか検討した。また，知見の乏しいインターナリゼーションについての解析を行い，その生理的意義を検討した。

CHAPTER Ⅰ ; IDENTIFICATION OF REGIONS IN THE HUMAN ANGIOTENSIN Ⅱ TYPE 1 RECEPTOR RESPONSIBLE FOR Gi AND Gq COUPLING BY MUTAGENESIS STUDY.

AT_1受容体のG proteinとの会合に重要な領域を解明するために，ヒトAT_1受容体の部位特異的変異体を作製，情報伝達系への影響を検討した。その結果，AT_1受容体の細胞内第2ループがGq, Giとの会合に重要であること，C末端領域は特にGiとの会合に重要であり，その特異性決定部位であることを明らかとした。また，この領域は，多機能性があり，細胞膜への局在，リガンド結合に重要な立体構造の維持にも関与していることが示唆された。

CHAPTER Ⅱ ; DIFFERENCE IN THE FATE OF THE POTENT VASOCONSTRICTORS ANGIOTENSIN Ⅱ AND ENDOTHELIN INTERNALIZED VIA THEIR RECEPTOR-MEDIATED ENDOCYTOSIS.

AT_1受容体をはじめとする膜7回貫通型の受容体については，細胞内シグナル伝達系の解析の報告が数多くなされているが，インターナリゼーションなど受容体がG proteinと会合し，シグナルを伝達し終わったその後について，すなわちリガンド，受容体そのものの運命などについての知見は少ない。そこでAT_1受容体に加え，

類似の生理機能を司るエンドセリン（ET）タイプA受容体（ET_A受容体）を対象に，インターナリゼーションを中心とした比較解析を行った。同一条件下で検討する必要性から，各々の組み換え体をチャイニーズハムスター卵巣細胞に導入，これらを安定に発現する細胞株を樹立した。その結果，AⅡはAT_1受容体を介して速やかにインターナリゼーションを受け，分離された後，細胞外へ放出されること，一方，ETもET_A受容体を介してインターナリゼーションされるものの，そのまま分解を受けず細胞内に留まっていることを明らかにした。このインターナリゼーション後の挙動の違いが，以前から注目されている，ETの持つAⅡに比べてより持続的な血管収縮活性を説明する一つのメカニズムとなっている可能性が考えられた。

審　査　の　要　旨

アンギオテンシンⅡタイプ1受容体（AT_1受容体）は，G proteinを介して細胞内へシグナルを伝達することが知られている。これまでにラットAT_1受容体を用いて，G proteinの結合領域を解明してきた論文はいくつかあるが，ヒトAT_1受容体について明らかにしたのは本論文CHAPTERⅠの研究が初めてである。今後，それぞれのアミノ酸配列を比較することにより，シグナリングの相違が明らかにできることを考慮すると，非常に価値のあるものと思われる。また，CHAPTERⅡにおいては，知見の乏しいインターナリゼーションについて，AT_1受容体に加え，類似の生理機能を持つエンドセリン受容体との比較研究を行い，両者の挙動の違いを明らかにしたのは特筆に値する。これは今まで不明瞭だったアンギオテンシンⅡとエンドセリンの血管収縮活性の違いを説明し得るものとして高く評価すべきと思われる。

よって，著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。