

〔総説〕

唾液腺におけるストア作動性Ca²⁺流入の活性化機構

東城 庸介

北海道医療大学歯学部人間基礎科学分野生物物理
北海道医療大学大学院歯学研究科薬理学分野Mechanism of activation of store-operated Ca²⁺ entry in salivary gland

Yosuke TOJYO

Laboratory of Biophysics, Integrated Human Sciences, School of Dentistry ; Department of Pharmacology,
Graduate School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

The cellular Ca²⁺ signaling system plays a central role in secretion of water and electrolytes in salivary glands. Activation of membrane receptors linked to phospholipase C results in a release of Ca²⁺ from intracellular stores and a sustained entry of Ca²⁺ across the plasma membrane. The Ca²⁺ release is mediated by inositol 1, 4, 5-trisphosphate (IP₃), while the Ca²⁺ entry is regulated by the level of Ca²⁺ stored in the endoplasmic reticulum (ER). This Ca²⁺ entry pathway is referred

to as “capacitative Ca²⁺ entry” or “store-operated Ca²⁺ entry (SOCE)”. In the past eight years, two key proteins, STIM1 and Orai1, in the molecular regulation of SOCE have been discovered. The STIM1 and Orai1 play critical roles in SOCE, as a Ca²⁺ sensor within the ER and as a store-operated Ca²⁺ channel in the plasma membrane, respectively. In this review, I summarize the historical development of the concept of SOCE.

1. はじめに

カルシウムイオン (Ca²⁺) は唾液分泌を調節する最も重要な細胞内メッセンジャーである。ムスカリン受容体やα₁アドレナリン受容体が活性化すると、細胞の内外からCa²⁺が動員され、細胞内（細胞質）のCa²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) が速やかに上昇する。[Ca²⁺]_iの上昇は2つの機序による。1つは、細胞内Ca²⁺ストア (store) と呼ばれるCa²⁺貯蔵部位（主に小胞体）からのCa²⁺の放出である。このCa²⁺放出にはイノシトールリン脂質代謝によって生成したイノシトール1,4,5三リン酸 (IP₃) がメッセンジャーとして働く。もう1つの機序は細胞外から細胞内へのCa²⁺の流入である。この2つの動員機序によって細胞内の [Ca²⁺]_iは一挙に数倍に上昇する。唾液腺細胞では、この反応が引き金になって様々なイオンチャネルやイオン輸送系が活性化し、腺房の基底側から腺腔側への水の移動（水分泌）が起きる（図1）(谷村, 東城,

2006)。

唾液腺にはCa²⁺シグナル系以外に、βアドレナリン受容体を介して活性化するcyclic AMP (cAMP) 産生系が存在する。こちらは主にアミラーゼやムチンなどのタンパク質の開口分泌を調節している。唾液腺ではCa²⁺系とcAMP系の2つの細胞内シグナル系が協同的に働くことから、唾液腺の生理機能や病態に興味を持つ研究者ばかりでなく、開口分泌の分子機構を追求する研究者、さらにはCa²⁺シグナルの生成機構に興味を持つ研究者にも、唾液腺は研究材料として広く応用されてきた。

今から30年ほど前、アメリカのNIEHS（国立環境衛生研究所）のJames W. Putneyは、非興奮性細胞におけるCa²⁺流入機構のモデルとして極めてユニークな仮説を提唱した (Putney, 1986)。Putneyはその仮説をcapacitative Ca²⁺ entry (容量性Ca²⁺流入) と名付けたが、現在ではstore-operated Ca²⁺ entry (SOCE) (ストア作動性Ca²⁺流

受付：平成25年9月30日

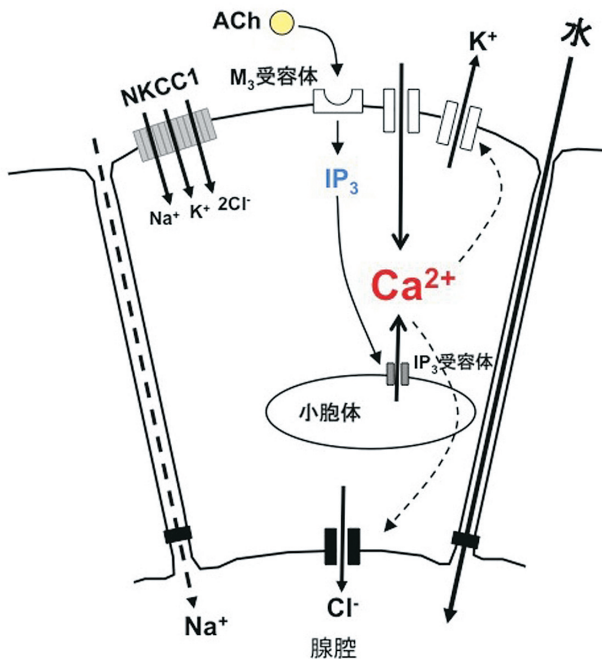


図1. 唾液腺における水分分泌の情報伝達機構. ACh, アセチルコリン; M₃受容体, M₃アセチルコリン受容体; IP₃, イノシトール1,4,5-三リン酸; NKCC1, Na⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送体.

入) という呼び名の方が一般的である. 非興奮性細胞とは, 細胞膜が電氣的興奮を起こさない細胞のことで, 神経や筋肉の様な活動電位を發する興奮性細胞と区別して付けられた名称である. 唾液腺細胞は典型的な非興奮性細胞と考えられており, PutneyがSOCE仮説を提唱するに至る多くの研究が唾液腺を使った研究であった. 私は, 1988年にPutneyの研究室を訪問した際(図2), この仮説モデルを初めて知り, 唾液腺を使った研究から普遍的なCa²⁺流入モデルを組み立てた彼の洞察力と研究手法に感銘を受けると共に, そのユニークな仮説モデルに強い興味を持った. ここでは「ストア作動性Ca²⁺流入

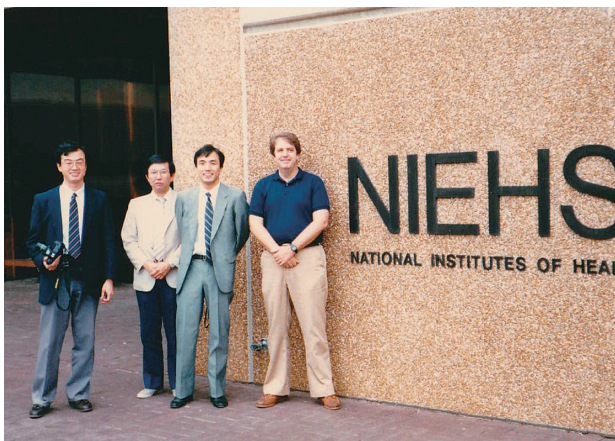


図2. 1988年にDr. Putneyの研究室を訪問した時のスナップ. 右端からDr. Putney, 北里大学解剖の瀬川彰久先生, 筆者, 生化学の田隈泰信教授.

(SOCE)」モデルと, それと関連する研究を概説し, さらに近年発見されたSOCEの制御分子を紹介する.

2. 細胞膜のイノシトールリン脂質代謝とCa²⁺動員

神経や筋肉など興奮性細胞には電氣的興奮によって開口する電位依存性Ca²⁺チャンネルが存在し, 膜が脱分極するとCa²⁺チャンネルが開口して細胞外からCa²⁺が流入する. また, 筋肉の場合は, 細胞膜で発生した電氣的興奮が筋小胞体にも伝わり, 筋小胞体上のCa²⁺チャンネル(リアノジン受容体)からCa²⁺が放出され, [Ca²⁺]_iは一挙に上昇する. 電位依存性Ca²⁺チャンネルは, 神経や筋肉に存在する最も主要なCa²⁺流入経路であり, 神経伝達物質の放出や筋収縮の制御に必須のシグナルとして働いている.

一方, 唾液腺細胞のような非興奮性細胞には膜電位の変化によって開閉する電位依存性Ca²⁺チャンネルは存在しないと考えられている. たとえ存在したとしても, その役割はおそらくマイナーであろう. 現在, 非興奮性細胞のCa²⁺シグナルがイノシトールリン脂質代謝を介して起きることは広く認められているが, 1970年代はほとんど謎であった. 大変古い話だが, 1953年にCa²⁺シグナル研究の先駆けになった論文がHokin夫妻によって発表された(Hokin & Hokin, 1953). 夫妻は, ハトの膀胱スライスをアセチルコリンで刺激すると, イノシトールリン脂質への³²Pの取り込みが増加することを発見した. 今から捉え返すと, この増加は分解したイノシトールリン脂質の再合成過程を反映したものであると考えられる. この研究は極めて重要な発見であるにもかかわらず, ³²P取り込みの生理的な意味が不明であったため, 当時はほとんど注目されなかったという. しかし, 私がCa²⁺シグナルの研究に手を染め始めた1980年代になると, M. R. HokinとL. E. Hokinの名は, Ca²⁺シグナル研究の先駆者として多くの研究者が知るところであった.

Hokin夫妻の研究から22年後の1975年, 英国のR. H. Michellは, 細胞膜で起きるイノシトールリン脂質の代謝亢進こそがCa²⁺動員を起こすメカニズムであるとする仮説を提唱した(Michell, 1975). Michellは, Ca²⁺動員として細胞外からのCa²⁺流入を想定していたので, 今日確立されたメカニズムとはやや違うが, 細胞膜のリン脂質代謝とCa²⁺シグナルとをドッキングさせた最初の研究者として広く知られている. しかし, 当時, この仮説に対しては反対もあり, Ca²⁺動員が先なのか, それともイノシトールリン脂質代謝が先なのかといった, 卵が先かニワトリが先かに似た論争がしばらく続いた. この論争に終止符を打ったのが1983年のM. J. Berridgeらの研究

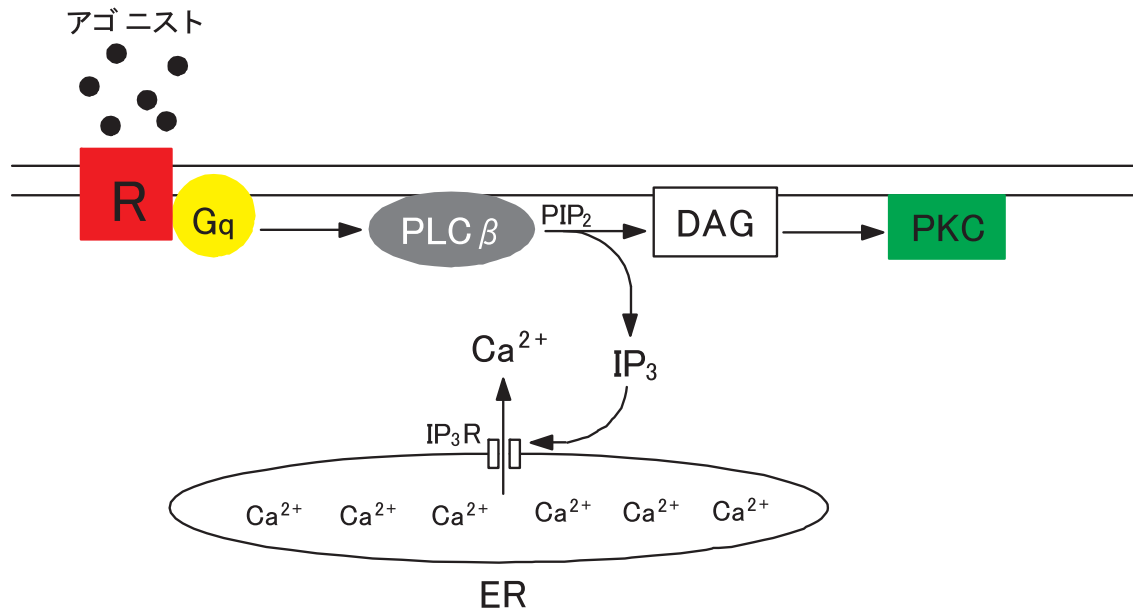


図3. イノシトールリン脂質代謝を介するCa²⁺動員. R, 受容体; Gq, G_{q/11}型のGタンパク質; PLCβ, ホスホリパーゼCβ; PIP₂, ホスファチジルイノシトール4,5-二リン酸; IP₃, イノシトール1,4,5-三リン酸; DAG, ジアシルグリセロール; PKC, プロテインキナーゼC; IP₃R, IP₃受容体; ER, 小胞体.

である (Streb et al., 1983). 彼らは, イノシトールリン脂質の代謝産物の1つであるイノシトール1,4,5三リン酸 (IP₃) をラットの膵臓腺房細胞に入れると, 小胞体からCa²⁺が遊離することをCa²⁺電極を使って証明した. IP₃以外のイノシトール代謝産物はCa²⁺遊離をほとんど起こさない. これが, IP₃がCa²⁺放出を起こすメッセンジャーであることを明らかにした最初の研究である.

現在, イノシトール代謝からCa²⁺遊離までの流れはほぼ完全に解明されている (図3). 細胞膜受容体が刺激を受けるとGTP-結合タンパク質 (Gq) を介してホスホリパーゼCという酵素が活性化し, 細胞膜の構成成分の1つであるホスファチジルイノシトール4,5二リン酸 (PIP₂) が加水分解され, 代謝産物であるIP₃とジアシルグリセロール (DAG) が生成される. IP₃は, 細胞内Ca²⁺ストアの膜 (小胞体膜) に分布するIP₃受容体 (Ca²⁺チャネル型受容体) に作用してCa²⁺を放出させる. IP₃受容体には3種類のサブタイプが存在し, それぞれの特性や分子構造については現在までにおおよそ明らかにされている. ちなみに, IP₃受容体を発見したのは東京大学の御子柴克彦教授 (現理化学研究所) であり, 現在もIP₃受容体研究の世界的リーダーとして活躍している. また, もう一方の代謝産物であるDAGはプロテインキナーゼC (PKC) を活性化する. PKCは, 1977年に神戸大学の西塚泰美教授 (当時) らによって発見されたタンパク質リン酸化酵素である. 唾液腺でのこの酵素の機能は十分には解明されていないが, ムスカリン受容体を介するアミラーゼ分泌では, PKCが重要な役割をすること

が示唆されている (Putney et al., 1984; Takuma & Ichida, 1986; Tojyo et al., 1992).

唾液腺にはIP₃産生を起こす受容体が複数存在する. ムスカリンM₃受容体, アドレナリンα₁受容体, そしてサブスタンスP (SP) 受容体である. 横道にそれるが, SP受容体については種差が大きいようで, SPによく反応するのはラットの唾液腺である. 20年前, 私たちは, マウスの唾液腺細胞をSPで刺激しても [Ca²⁺]_i上昇やIP₃産生が全く起きないことを見つけ, AOBに短報で報告した (Tojyo et al., 1993). 我々より先に, 日本歯科大学新潟の岩淵良志喜博士は, マウスにSPを投与しても唾液分泌が起きないことを報告している (Iwabuchi et al., 1989). どうやらマウスの唾液腺にはSP受容体が存在しないらしい. 近縁の齧歯類なのにラットとマウスでなぜこの様な違いがあるのか, 不思議な話だ. SPに反応するラットの唾液腺の方が特殊なのかも知れない. しかし, この様な種差の研究はあまり注目されないし, 周囲の評価も低いので, 誰も熱を入れてやらない.

3. Ca²⁺シグナルの二相性反応

細胞内 (細胞質) のCa²⁺濃度は細胞外の1万分の1以下, 約100nMである. この極微量なCa²⁺の測定にはCa²⁺感受性蛍光試薬を使うのが現在一般的である. 特にfura-2という蛍光試薬 (図4A) が最も広く用いられている. この測定法の原理については, 本学会誌の総説に以前書いたので参照してほしい (東城, 2005). ちなみにfura-2は, 1985年にRoger Y. Tsienという, 当時32歳のア

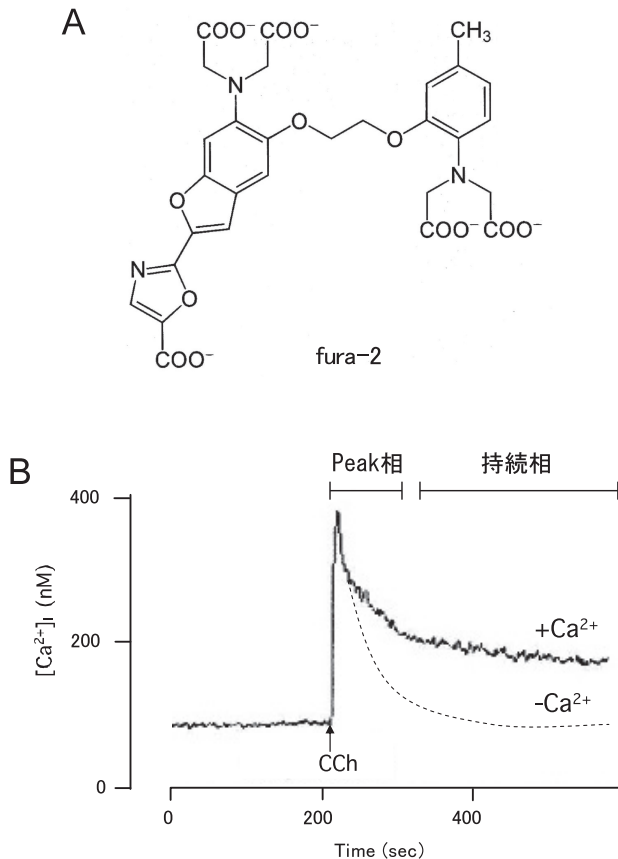


図4. Ca^{2+} 感受性蛍光試薬fura-2の構造 (A) とラット耳下腺細胞における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇反応 (B). 単離した耳下腺細胞に fura-2 を取り込ませ、カルバコール (CCh) でムスカリン受容体を刺激すると、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇はピーク相と持続相から成る二相性反応を示す。外液 Ca^{2+} の非存在下で刺激した時は持続相が消失し、ピーク相のみが残る (破線)。

アメリカの若手研究者によって開発された (Grynkiewicz et al., 1985)。この測定法の普及は Ca^{2+} シグナル研究の勃興期と軌を一にするものであり、この蛍光試薬がサイエンス全体に与えた影響は計り知れない。ある総説によると、JBC に発表された Tsien のこの論文は 15,000 回以上引用されたという (Petersen et al., 2005)。私は 2005 年の本学会誌に、「生命現象をリアルタイムで可視化することを可能にした Tsien の功績は極めて大きく、ひょっとするとノーベル賞も近いかも知れない」と書いた (東城, 2005)。彼は、fura-2 の開発後もクラゲの蛍光タンパク質 GFP (green fluorescent protein) の変異体を使った様々な蛍光プローブを開発し、私の予想通り、3 年後の 2008 年に日本の下村脩博士と共にノーベル化学賞を受賞した。私の予想がばっちりの時は実に爽快であった。

唾液腺細胞に fura-2 を取り込ませ、ムスカリン受容体刺激による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化を測定すると、刺激直後の大きなピーク相とその後の持続相が出現する (図 4 B)。しかし、二相性反応が現れるのは細胞外液に Ca^{2+} が存在

する時で、細胞外液の Ca^{2+} を除くと持続相は消失し、ピーク相のみが残る。すなわち、ピーク相は IP_3 をメッセンジャーとする Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出であるのに対し、持続相は細胞外からの Ca^{2+} の流入である。Putney は、fura-2 による測定法が一般化する以前から、唾液腺細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化は二相性になると考えていた (Putney, 1976; 1977)。彼の考えは、 ^{86}Rb (K^+ と同じ挙動を示すアイソトープ) を使った K^+ 流出実験のデータから得られた結論である。唾液腺細胞からの K^+ 流出は Ca^{2+} 依存的に活性化されることが明らかになっていたので、Putney は K^+ の流出パターンが Ca^{2+} の細胞内動態を反映していると考えたようだ。確かに、彼の当時の論文を見ると、 ^{86}Rb の流出パターンは fura-2 によって測定した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化とよく一致しており、改めて彼の洞察力の鋭さに感心する。

4. 「ストア作動性 Ca^{2+} 流入」とは？

細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出 (ピーク相) においては、 IP_3 がメッセンジャーとして主役を担っていることは疑いの余地がない。一方、細胞外からの Ca^{2+} 流入 (持続相) はどのように調節されているのか？ 1980 年代後半、それを説明するための様々な仮説が提唱された。 IP_3 が、 Ca^{2+} 放出だけでなく、 Ca^{2+} 流入のメッセンジャーとしても働くとする IP_3 説 (Kuno & Gardner, 1987)、 IP_3 のリン酸化産物である IP_4 が IP_3 と共同で働くとする IP_4 説 (Morris et al., 1987) などが代表的なものであるが、いずれも広い支持を集めることはできず、今ではこれらの説は消えてしまった。その頃現れた仮説が、Putney が提唱した capacitative Ca^{2+} entry (容量性 Ca^{2+} 流入)、別名 SOCE (ストア作動性 Ca^{2+} 流入) である。この説は、 Ca^{2+} 流入に “メッセンジャー” は必要ないという考えなので、“メッセンジャー” に固執していた当時の研究者は皆驚いた。

このモデルによると、 Ca^{2+} 流入は Ca^{2+} 放出と一体の現象であり、ストアからの Ca^{2+} 放出が起きなければ Ca^{2+} の流入も起きない。 Ca^{2+} 放出によってストア内の Ca^{2+} が枯渇する (Ca^{2+} レベルが低下する) と、それが引き金になって細胞外から Ca^{2+} が流入し、枯渇した Ca^{2+} ストアは流入した Ca^{2+} によって再充填される。また、ストアからの Ca^{2+} 放出が続く限り、 Ca^{2+} 流入も続く。 IP_3 や IP_4 などの膜リン脂質の代謝産物は、この Ca^{2+} 流入に直接的には関与していないという。Putney が命名した capacitative Ca^{2+} entry (容量性 Ca^{2+} 流入) という名称は、 Ca^{2+} ストアと細胞膜との関係が電気回路におけるコンデンサー (capacitor) と抵抗器 (resistor) との関係に似ていることから

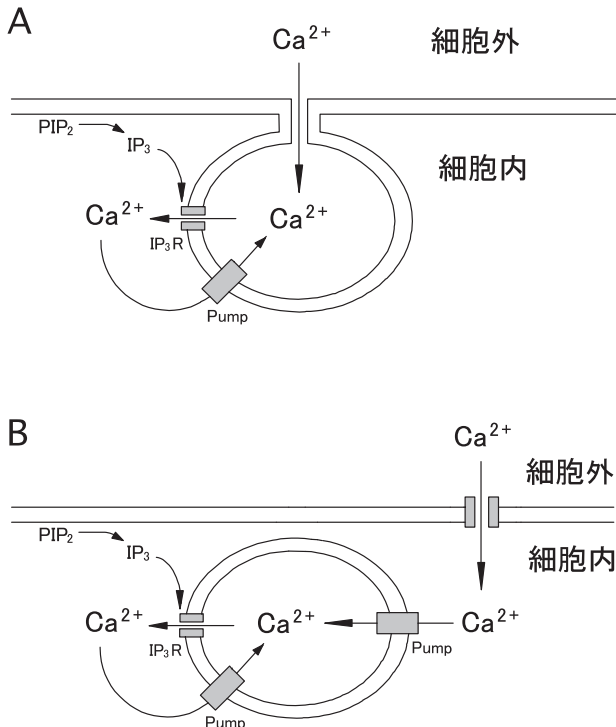


図5. Putneyが提唱した非興奮性細胞における Ca^{2+} 流入モデル。(A) 1986年のオリジナル版。(B) 1990年の修正版。

名付けられた。

1986年に発表されたSOCEモデルのオリジナル版(図5A)(Putney, 1986)では、細胞内 Ca^{2+} ストアは細胞外と直接繋がっており、ストアが枯渇すると、ストアと細胞外とを繋ぐ流入路が開き、細胞外からストア内に直接 Ca^{2+} が流入する。この仮説は、唾液腺を使った K^+ (^{86}R)放出実験の解析に基づいて組み立てられたモデルで、細胞内の Ca^{2+} の変化を直接モニターしたわけではない。その後、 Ca^{2+} 蛍光試薬fura-2による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定が行われるようになり、新たな知見が蓄積された。特に、Takemura and Putney (1989)は、枯渇した Ca^{2+} ストアが再充填する時、細胞質の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が通常より高くなる現象(オーバーシュート)が見られることを、ラットの耳下腺細胞を使って発見した(Takemura & Putney, 1989)。もし Ca^{2+} ストアと細胞外が直接繋がっているのなら、このようなオーバーシュートは見られないはずである。そこで、Putneyは、オリジナル版を一部修正し、SOCEの新モデルを1990年に発表した(図5B)(Putney, 1990)。修正版によると、 Ca^{2+} は一旦細胞質に流入し、その後ストアの膜上の Ca^{2+} ポンプ(Ca^{2+} -ATPase)によってストア内に取り込まれるという。

このSOCEモデルは、それまでに得られた非興奮性細胞の Ca^{2+} 流入実験の結果をほぼ矛盾無く説明することができた。しかし、未だ状況証拠のみであり、誰をも納得させるだけの確定的な証拠がそろったとは言えなかつ

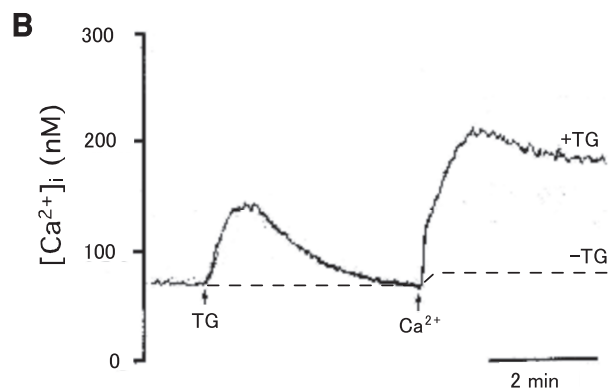
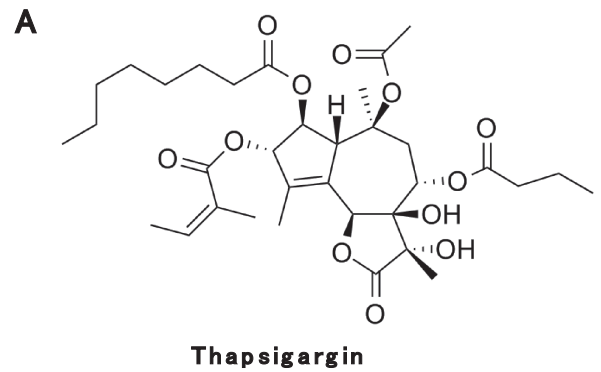


図6. 小胞体 Ca^{2+} ポンプ阻害薬タブシガルジン(thapsigargin)の構造(A)と Ca^{2+} 流入に対するタブシガルジン(TG)の効果(B)。単離したラット耳下腺細胞にfura-2を取り込ませ、外液 Ca^{2+} の非存在下でTGを作用させた。一過性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇の後、外液に Ca^{2+} を加えると大きな Ca^{2+} 流入反応が起きた。TGを作用させずに Ca^{2+} を加えた時は Ca^{2+} 流入はほとんど起きない(破線)。

た。事実、当時一部の研究者からは「これまでに提唱された中で最もstupid(ばかげた)モデルだ」と批判されたという。空想の域を出ない怪しい仮説と見ていた研究者も多かったのではないだろうか。しかし、このモデルがその後、非興奮性細胞における Ca^{2+} 流入機構として広く受け入れられることになる。

5. タブシガルジンの作用

SOCE研究の歴史を振り返ると、タブシガルジン(thapsigargin(TG))という植物由来の化学物質(図6A)が極めて重要な役割を果たしたことがわかる。TGは*Thapsia garganica*というセリ科の植物から単離した発がんプロモーターである。発がんプロモーターとしては、PKCを活性化するホルボールエステルがよく知られているが、TGにはPKCを活性化する作用はない。デンマークのOle Thastrupのグループは、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に対するTGの興味深い作用を1987年と1988年の論文に発表した(Thastrup et al., 1987; Jackson et al., 1988)。それによると、TGは細胞内ストアからの Ca^{2+} 遊離を引き起こし、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を上

昇させるという。この化合物は、イオノマイシンやA 23187の様なCa²⁺イオノフォアとしての作用はないし、イノシトールリン脂質代謝を刺激する作用もないので、この[Ca²⁺]_i上昇は全く別のメカニズムによる。Thastrupらはその後の研究で、TGが小胞体のATP-依存性Ca²⁺ポンプ(Ca²⁺-ATPase)を特異的に阻害することを明らかにした(Thastrup et al., 1990)。分子構造が異なる細胞膜のCa²⁺ポンプは阻害を受けないことも確認された。

小胞体のCa²⁺ポンプを阻害すると、なぜCa²⁺が遊離するのか？小胞体が細胞内のCa²⁺貯蔵庫(Ca²⁺ストア)として機能していることは既に述べた。小胞体内のCa²⁺濃度は数百μMと見積もられており、この濃度は細胞外のCa²⁺濃度(> 1 mM)よりはやや低いが、細胞質のCa²⁺濃度と比べると数千倍高い。これは、Ca²⁺がCa²⁺ポンプによって能動的に小胞体内に取り込まれているからである。小胞体の内と外との大きな濃度差は、小胞体内から細胞質へのCa²⁺の漏れ出し(リーク)を生じさせる。リークしたCa²⁺は直ちにCa²⁺ポンプによって小胞体内に取り込まれるので、細胞質のCa²⁺は常に低い濃度に保たれている。しかし、TGがCa²⁺ポンプを阻害するとCa²⁺の再取り込み機構が失われ、小胞体からのCa²⁺のリークが続く。その結果、徐々に細胞質のCa²⁺濃度が上昇すると共に、Ca²⁺ストア内のCa²⁺が枯渇する。

TGのこの作用に注目したのがPutneyである。彼は早速ThastrupからTGの供与を受け、ラットの耳下腺細胞を使ってTGの効果を調べた。その結果、1) TGが作用するCa²⁺ストアと、IP₃が作用するCa²⁺ストアとは共通であること、2) TGはCa²⁺放出を起こすだけでなく持続的なCa²⁺流入をも起こすこと、3) TGによって起きるCa²⁺流入は、ムスカリン受容体刺激によって起きるCa²⁺流入と同じ経路(同じCa²⁺チャンネル)を介すことなどが明らかになった(Takemura et al., 1989)。すなわちTGは、IP₃生成を刺激せずにSOCEを活性化する特異な試薬であることがわかった。ところで、この実験に最も深く関わったのは、当時Putneyのラボに留学していた札幌医科大学薬理の竹村晴夫博士である。耳下腺細胞を使ったSOCEの証明には竹村博士の貢献が極めて大きいといえる。私が丁度この時期にPutneyのラボを訪問し、竹村博士らの研究の様子を垣間見ることができたのは大変幸運であった。その後、TGによるSOCEの活性化は耳下腺以外の細胞でも次々に報告され、TGはSOCEの研究にとって無くてはならない薬理学的toolとして今日でも広く用いられている。

ここでTGがSOCEを活性化することを示した実験の1例を紹介する。図6 Bは、ラット耳下腺細胞にfura-2を

取り込ませ、TG添加後の[Ca²⁺]_iの変化をモニターした結果である。Ca²⁺を含まない溶液中では、[Ca²⁺]_iはゆっくりと上昇し、数分後にはbasal [Ca²⁺]_iレベルに戻る。この一過性の反応は細胞内ストアからのCa²⁺遊離(Ca²⁺リーク)を示している。細胞外にはCa²⁺が存在しないのでCa²⁺が補充されず、ストアはやがて枯渇する。この一過性の[Ca²⁺]_i上昇反応の後、外液にCa²⁺を添加すると[Ca²⁺]_iが大きく上昇する。この上昇は細胞外からのCa²⁺流入を示している。TGを作用させずにCa²⁺を添加した場合は、この様な大きなCa²⁺流入は出現しない(図6 B, 破線)。TGを作用させ、Ca²⁺流入の大きさをモニターする手法は、今ではSOCEのルーチンな解析法として確立している。

6. Ca²⁺流入因子(CIF)

1990年代に入るとSOCEは非興奮性細胞における主要なCa²⁺流入機構として広く認められるようになった。しかし、ストアが枯渇するとなぜ細胞膜のCa²⁺チャンネルが開くのかは謎であり、当時、ストアの枯渇の情報を細胞膜(Ca²⁺チャンネル)に伝える機序についていくつかの仮説が提唱された。代表的なのが拡散性メッセンジャー(diffusible messenger)説である(図7 A)。ストアが枯渇するとある種の物質が拡散し、その物質の作用で細胞膜のSOCチャンネル(store-operated Ca²⁺ channel)が開くするという仮説である。そのメッセンジャーの候補としては、cyclic GMP(Pandol and Schoeffield-Payne, 1990; Xu et al., 1994)、アラキドン酸やその代謝産物(Rzagalinski et al., 1996; Wolf et al., 1997)、チトクロムP 450(Alvarez et al., 1991; Montero et al., 1991)、small Gタンパク質(Fasolato et al., 1993)などが提唱され、百家争鳴の感を呈していた。これらの物質の中には、SOCチャンネルとは異なるCa²⁺チャンネルの開口に関与するものがあるが、ストアの枯渇の情報を伝えるメッセンジャーとしては今日否定されている。

1993年、Ca²⁺ストアを枯渇させたJurkat細胞の抽出物中に、Ca²⁺流入を刺激する未知の物質が出現するという論文が発表された(Randriamampita and Tsien, 1993)。この未知物質はcalcium influx factor(CIF)と名付けられ、これこそがストアの枯渇によって遊離するメッセンジャー物質ではないかと考えられた。掲載された雑誌は天下のNature、著者はfura-2の開発者であるR. Y. Tsienである。影響が小さいわけではない。世界中でこの未知物質の探索が始まった。いよいよSOCEの分子メカニズムの解明も近いと思われるが、結果的には誰もCIFの正体を突き止めることはできず、CIFは幻に終わった。

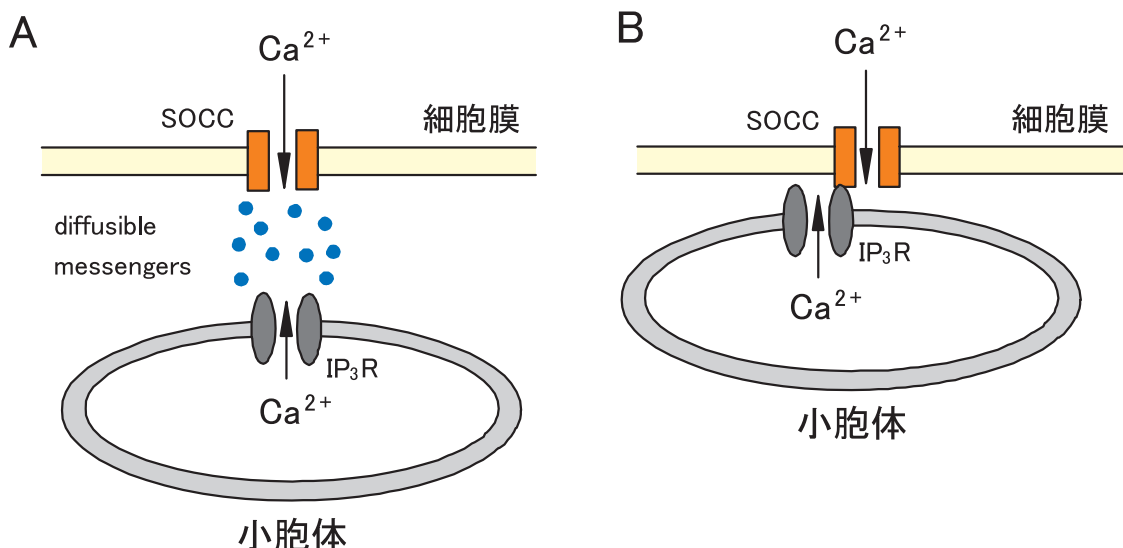


図7. Ca²⁺ストアの枯渇の情報を細胞膜に伝える機序. 拡散性メッセンジャー説 (A) と構造的連結モデル (B). SOCC, ストア作動性Ca²⁺チャネル.

Putneyは当初からこのCIF説には懐疑的で、この説を否定する論文を発表している (Gilon et al., 1995). 彼は、Jurkat細胞の抽出物中に [Ca²⁺]_i上昇を起こすアセチルコリン様の活性因子が含まれている可能性を指摘している. PutneyのグループとTsienのグループがこのCIFの“真贋”を巡ってNature誌上で論争を行っており (Bird et al., 1995), CIFがこの時代のトピックの1つであったことをうかがわせる.

7. 構造的連結モデル

拡散性メッセンジャー説が注目を集めていた頃、それとは別に構造的連結モデル (conformational coupling model) という仮説を提唱する研究者もいた (Irvine, 1990; Berridge, 1995の総説). この仮説 (図7B) では、小胞体 (ストア) 膜にあるIP₃受容体と細胞膜上のCa²⁺チャネルとが構造的に極めて近接した位置にあり、ストアが枯渇するとIP₃受容体の構造が変化して細胞膜のCa²⁺チャネルと直接相互作用する. その結果、ストアの枯渇の情報が細胞膜に伝えられ、Ca²⁺チャネルが開く. このモデルは、骨格筋T管膜のジヒドロピリジン受容体と筋小胞体膜のリアノジン受容体との関係を類似化したもので、大変魅力的な仮説であったが、実験的な証拠が少なく、拡散性メッセンジャー説ほどは注目されなかったと思う. しかし、歴史というのは皮肉なもので、今日確立されつつあるSOCEの分子メカニズムは、どちらかと言うとこの構造的連結モデルに近い.

8. TRPチャネル

SOCEの分子機構の研究で、もう1つの解明すべき重

要課題は細胞膜Ca²⁺チャネル (SOCチャネル) の同定であった. 神経や筋肉などの興奮性細胞に存在する電位依存性Ca²⁺チャネルは、高血圧や不整脈の治療に用いられるCa²⁺拮抗薬 (Ca²⁺アンタゴニスト) の標的分子であることから、その生理や薬理が比較的早い時期から詳細に解析されてきた. それに対してSOCチャネルの正体は近年までほとんど不明であったと断言していい.

1992年、ショウジョウバエの光受容器に持続的なCa²⁺流入を起こすイオンチャネルが存在することが報告され (Hardie & Minke, 1992), transient receptor potential (TRP) チャネルと名付けられた. TRPチャネルは哺乳類にも広く存在し、現在、少なくとも29種類のTRPチャネル遺伝子が同定されている. この中のTRPCサブファミリーがSOCチャネルの本体であるという考えが提唱され、その証明のためにこれまで多くの研究が費やされてきた. TRPCチャネルは唾液腺細胞にも存在し、アメリカNIDCRのI. S. AmbudkarのグループがTRPC説に基づいて精力的な研究を繰り返している (Singh et al., 2001; Liu et al., 2007).

しかし、TRPC説にはいくつかの弱点がある. 1つは、このチャネルはCa²⁺に対する選択性が必ずしも大きくないという点である. Ca²⁺以外の陽イオンも少なからずこのチャネルを通るので、Ca²⁺チャネルと言うより陽イオンチャネルと呼ぶ方が適切かも知れない. また、パッチクランプ法という実験手技でイオン電流 (current) を測定すると、TRPCチャネルの活性化によって生じる電流は、SOCEによる電流 (I_{SOCE}と呼ばれている) とは異なる特徴を持つことが示されている. 以上のことから、TRPCチャネルがSOCチャネルの本体であるという考え

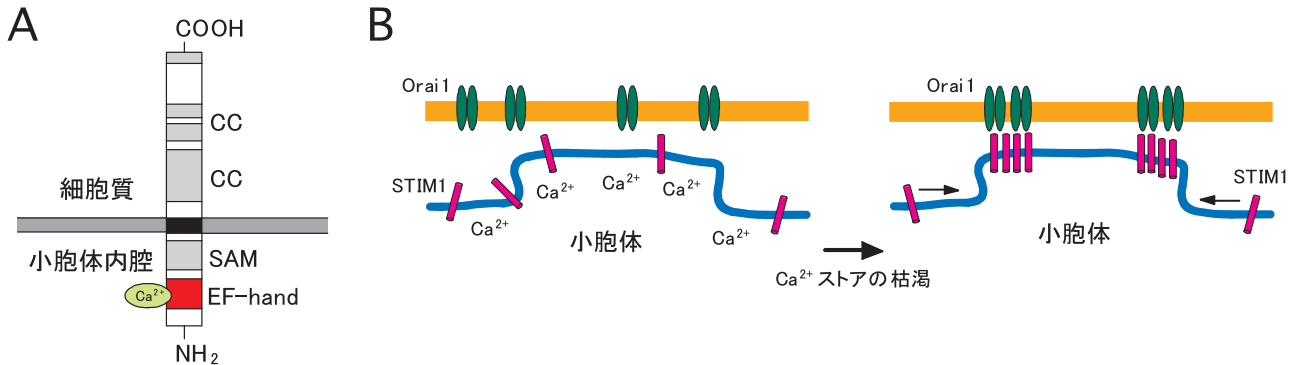


図 8. (A) STIM1の構造. N末端側には小胞体内の Ca^{2+} 濃度を感知するEF hand domainやsterile α -motif (SAM)が含まれる. 細胞質側にはSTIM1の凝集やOrai1の活性化に関与するcoiled-coil domains (CC)が含まれる. (B) STIM1の分布変化. 小胞体の Ca^{2+} が枯渇するとSTIM1が細胞膜の近傍に凝集し, 細胞膜のOrai1と相互作用する. その結果Orai1が活性化し, Ca^{2+} が細胞内に流入する.

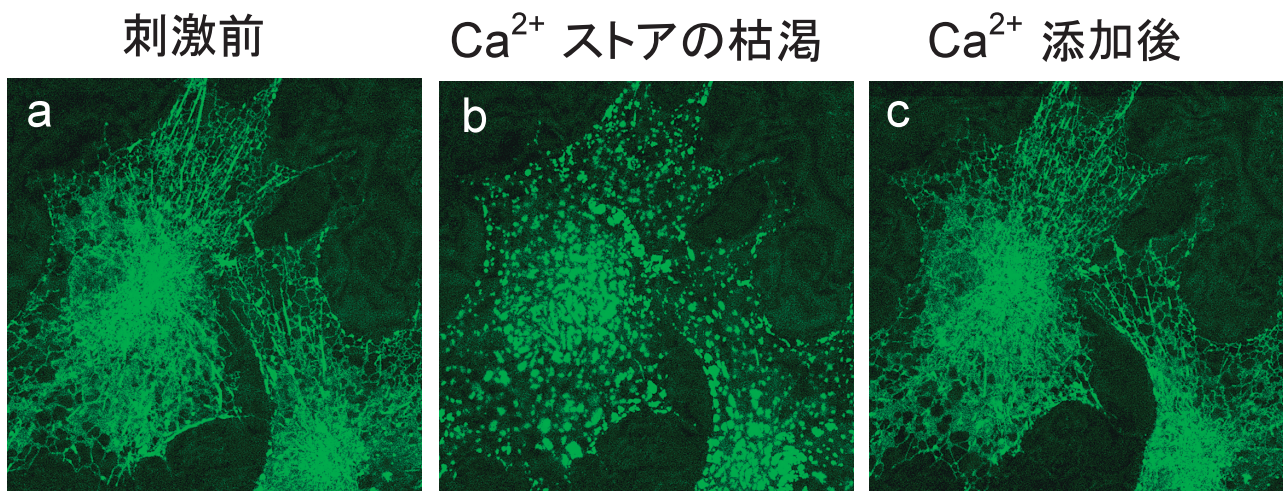


図 9. YFP-STIM1の細胞内分布の変化. COS-7細胞にYFP-STIM1を発現させ, 共焦点レーザー顕微鏡で観察した. (a) 刺激前のYFP-STIM1の分布. (b) ATP刺激によって Ca^{2+} ストアを枯渇させた時のYFP-STIM1の分布. 多数の凝集像が出現した. (c) ストアを Ca^{2+} で再充填するとYFP-STIM1は刺激前の分布に戻る.

には疑問を持つ研究者もいた (Putney, 2007).

TRPC説が出てからの10年間はSOCE研究の焦点は主にTRPの機能解析に当てられていたように思う. しかし, 多くのエネルギーと時間 (そして研究費) を費やした割にはSOCEとTRPとの関係はクリアにはならなかった. 痒い足の裏を靴の底から必至になって搔いている様なもので, なかなか心地よくなる. このフラストレーションの解消には2005年と2006年に続けて発見された2種類のタンパク質の出現を待たなければならなかった.

9. STIM1とOrai1の発見

サイエンスの発展過程には2つの段階があると, ある高名な研究者の講演で聞いたことがある. 1つは, 同質の研究が平面的 (面積的) に広がる段階 (時期) で, この段階は研究内容が深まり, 細部が明瞭になるが, 質的な変化が際だって大きいわけではない. もう1つは, 研

究の質が飛躍的に変化する段階で, これによって研究は別の地平に達する. 言い換えれば, 研究過程にはプラトー相と跳躍相があるというのだ. STIM1 (stromal interaction molecule 1) とOrai1の発見は, SOCE研究の質を飛躍させた, 正に跳躍相 (breakthrough) であったと言える.

STIM1は元々ストローマ細胞の膜分子として同定されたタンパク質で, ショウジョウバエから哺乳類まで広く分布する. 2005年, STIM1がSOCEを制御する必須のタンパク質であることをアメリカの2つのグループがほぼ同時に報告した (Roos et al, 2005; Liou et al., 2005). いずれにおいても, RNAi (RNA interference) スクリーニングという方法を使ってSTIM1をノックダウンしたところ, SOCEが著しく抑制されることが示された. STIM1は主に小胞体膜に存在する一回膜貫通型のタンパク質であり, 小胞体内の Ca^{2+} 濃度を感知する Ca^{2+} センサーとして働いている (図 8 A). 小胞体内腔に位置するSTIM1

のN末端側にはEF-hand domainと呼ばれるCa²⁺結合部位があり、小胞体内腔のCa²⁺濃度の変化によってCa²⁺が結合したり遊離したりする。Ca²⁺ストアのCa²⁺濃度が低下するとEF-hand domainからCa²⁺が離れ、STIM1は小胞体膜上を移動して細胞膜近傍に集まる。さらにSTIM1分子同士が凝集して、punctaあるいはclusterと呼ばれる粒状構造を形成する(図8B)。この反応は可逆的で、Ca²⁺ストアがCa²⁺で再充填されるとpunctaは消失し、STIM1は元の分布に戻る(Liou et al., 2007; Smyth et al., 2008)。

このSTIM1のダイナミックな分布変化は、蛍光タンパク質でラベルしたSTIM1を培養細胞に発現させ、その分布変化を顕微鏡観察することによって容易に捉えることができる。図9に我々が観察した1例を紹介する。これはYFP (GFPの変異体) で標識したSTIM1 (YFP-STIM1) を培養細胞 (COS-7細胞) に発現させ、その分布を共焦点レーザー顕微鏡で観察した画像である。刺激前のYFP-STIM1は小胞体の網状構造に均一に分布しているが、アゴニスト (ATP) で刺激してCa²⁺ストアを枯渇させると、多数の凝集像 (puncta) が出現する。ATPを洗い流した後、Ca²⁺を添加してストアを再充填すると、YFP-STIM1の分布は刺激前の状態に戻る。STIM1が小胞体のCa²⁺センサーであることは、これまで多くの実験的証拠が蓄積されていて (Zhang et al., 2005)、疑う余地はない。

さて、もう1つのkeyタンパク質であるOrailとは何か? このタンパク質こそが、これまで探しあぐねていたSOCチャンネルの本体であるという考えが現在有力である。未だTRPCに固執している研究者もいないわけではないが、私が見る限りでは大勢は決しているように思われる。Orailは2006年にアメリカの3つの研究グループによって別々に発見され (Feske et al., 2006; Zhang et al., 2006; Vig et al., 2006)、一時はOraiとCRACMという名称が並行して用いられたが、Stefan Feskeのグループの発表がわずかに早かったことから、現在ではOrailが定着している。Oraiという名称は、ギリシャ神話に出てくる天国の門を守る女神 (the keepers of the gates of heaven) の名前から名付けられたとのことである。OrailはCa²⁺チャンネルの守り神である。

Feskeのグループは、重症複合型免疫不全症 (severe combined immunodeficiency; SCID) という先天的な免疫欠損症の研究からOrailを発見した。彼らは、Orailを発見する前から、SCID患者のT細胞ではSOCEがほぼ完全に欠損していることを報告していた (Feske et al., 2005)。そこでSCIDの原因遺伝子を特定するため、全ゲ

ノム情報の網羅的解析とRNAiスクリーニングを行い、SCID患者で発現するSOCEの欠損がOrailの一塩基変異 (271番目のシトシンがチミンに置換) によることを明らかにした。この変異は91番目のアミノ酸をアルギニンからトリプトファンに変えてしまう。SCID患者のT細胞に正常なOrailを強制発現すると、SOCEが回復することも確認された。Natureに発表されたこの論文 (Feske et al., 2006) は、SOCEがヒトの生理や病態と深く結びついていること示したインパクトの大きい研究であり、セミナーで薬理の森田講師がこの論文を紹介した時は、SOCEの研究もここまで進展したのかと、強い感動を覚えた。

Orailは4つの膜貫通領域を有する細胞膜タンパク質で、4量体でチャンネル・ポア (pore) を形成する。細胞膜近傍でSTIM1が凝集 (puncta形成) すると、STIM1とOrailとの相互作用によってOrailは活性化される (チャンネルの開口)。STIM1遺伝子に変異を加えてOrailとの相互作用ができないようにすると、Orailは活性化しない (Baba et al., 2006)。STIM1とOrailとの相互作用をモジュレートする調節因子の存在も示唆されているが (Varnai et al., 2007)、SOCEの活性化にはSTIM1とOrailの2つのkeyタンパク質があれば基本的に十分な様である。最近のSOCE研究はSTIM1とOrailとの相互作用の分子メカニズムが焦点になっており (Shaw et al., 2013)、近い将来この点についても全貌が明らかになると思う。また、STIM1の他にSTIM2、Orailの他にOrail2とOrail3という兄弟分子が存在することも分かってきた。これらの分子の役割についても解明が待たれる。

10. SOCEの欠損と病態

Orailの遺伝子変異の発見からやや遅れて、STIM1の遺伝子変異を持つ家族性疾患が見つかった (Picard et al., 2009)。この患者はSCID患者と同様の免疫不全を示すが、Orailの遺伝子は正常であった。STIM1遺伝子の塩基配列を調べると、380番目と381番目の塩基の間に余分なアデニンが挿入されており、その結果、フレームシフトによってSTIM1タンパク質は136番目以降のアミノ酸 (C末端側) が欠失していることが分かった。この患者から採取した細胞を刺激してもSOCEは活性化されない。しかし、そのSOCE欠損細胞 (患者の繊維芽細胞) に正常なSTIM1遺伝子を導入すると、SOCEが回復する。こうしてSTIM1とOrailの遺伝子変異の発見によって、これらのタンパク質がヒトの病態や疾患の原因になることが実証されたわけである。

STIM1の遺伝子変異を持つ患者は、免疫不全の他に、

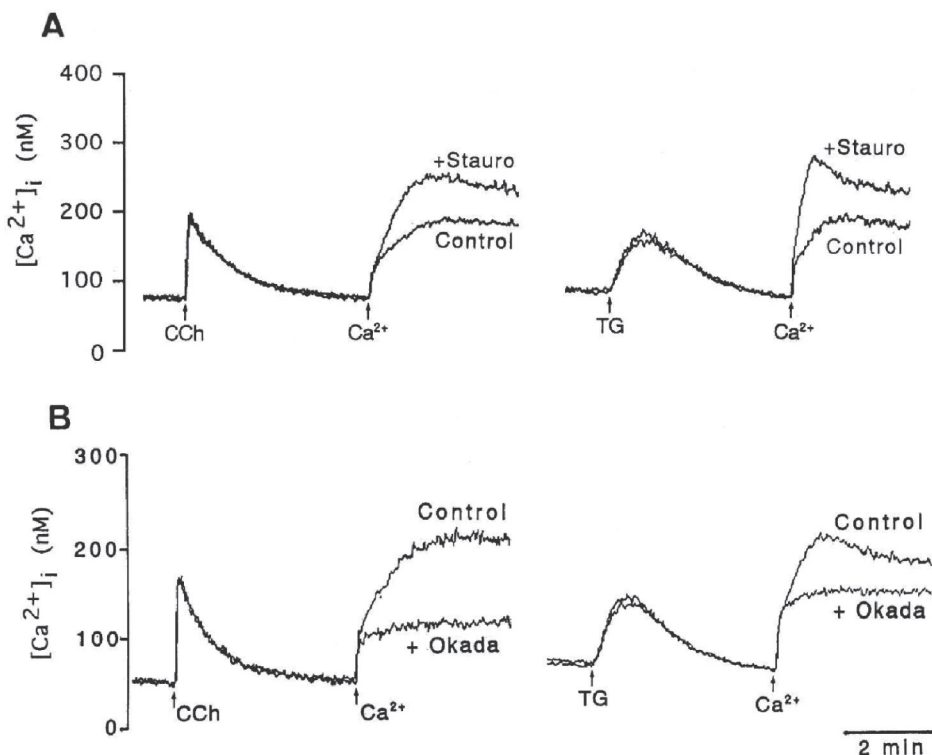


図10. ラット耳下腺細胞におけるストア作動性Ca²⁺流入に対するスタウロスポリン (Stauro) (A) とオカダ酸 (Okada) (B) の効果. StauroあるいはOkadaで前処理した細胞をカルバコール (CCh) あるいはタプシガルジン (TG) で刺激した. 一過性の [Ca²⁺]_i上昇の後, 外液にCa²⁺を加えたところ, Stauro処理ではCa²⁺流入が増強したが, Okada処理では流入が抑制された (Tojyo et al., 1995a; 1995b).

骨格筋の萎縮 (myopathy) やエナメル質の形成不全 (amelogenesis imperfecta) などの特徴的な表現型を示す. これは, 先のOrai1の遺伝子変異 (SCID) で見られる病態とほぼ同じであることから, 両遺伝子変異で現れる表現型は, いずれもSOCEの欠損が原因であると考えられている. 特に, 歯学部に着籍を置く者にとってはSOCEの欠損がエナメル質の形成不全を起こすことは大変興味深い. この患者では, 乳歯と永久歯のいずれにもエナメル質の石灰化不全が見られ, 軟弱なエナメル質は徐々に消失して, ついには象牙質が露出するという. SOCEの欠損がエナメル芽細胞の機能に障害を与えたのではないかと考えられているが, まだ確定的なことは分かっていない. マウスを使った動物実験であるが, Orai1遺伝子をノックアウトすると, 骨形成やエナメル質形成が抑制されることが最近報告された (Robinson et al., 2012).

ヒトのSOCE欠損と病態との関係については詳しい総説があるので参照してほしい (Feske, 2010).

11. リン酸化-脱リン酸化によるSOCEの調節

最後にSOCEに関係した私たちの研究を紹介したい. もう18年前になるが, 私たちは, タンパク質リン酸化酵

素 (キナーゼ) や脱リン酸化酵素 (ホスファターゼ) の阻害薬によって, ラット耳下腺細胞のSOCEが増強したり低下したりすることを見つけ, 2報の論文に発表した (Tojyo et al., 1995a, 1995b). 図10はそのデータの一部である. 細胞内ストアからのCa²⁺放出はこれらの酵素阻害薬によって全く影響を受けなかったが, Ca²⁺流入はキナーゼ阻害薬であるスタウロスポリンによって有意に増強され, セリン/スレオニン・ホスファターゼ阻害薬であるオカダ酸によって逆に抑制されることが分かった. 当時, 同様の現象をアメリカNIHのグループも報告しており (Sakai & Ambudkar, 1996), SOCEがこれらの酵素阻害薬によって影響を受けることは間違いのないと思われる. この結果は, SOCEがタンパク質のリン酸化-脱リン酸化による調節を受けていることを示唆するが, 残念ながらそれ以上に研究を進展させることはできなかった.

COS-7細胞はP₂受容体アゴニストであるATPによく反応し, ピーク相と持続相から成る2相性の [Ca²⁺]_i上昇を示す. 数年前, 試しにCOS-7細胞を使ってスタウロスポリンの効果を調べてみたところ, 面白い現象を見つけた. 図11にその結果の一部を示す. 持続相でATPを除くと, コントロール細胞の [Ca²⁺]_iは速やかに刺激前のレ

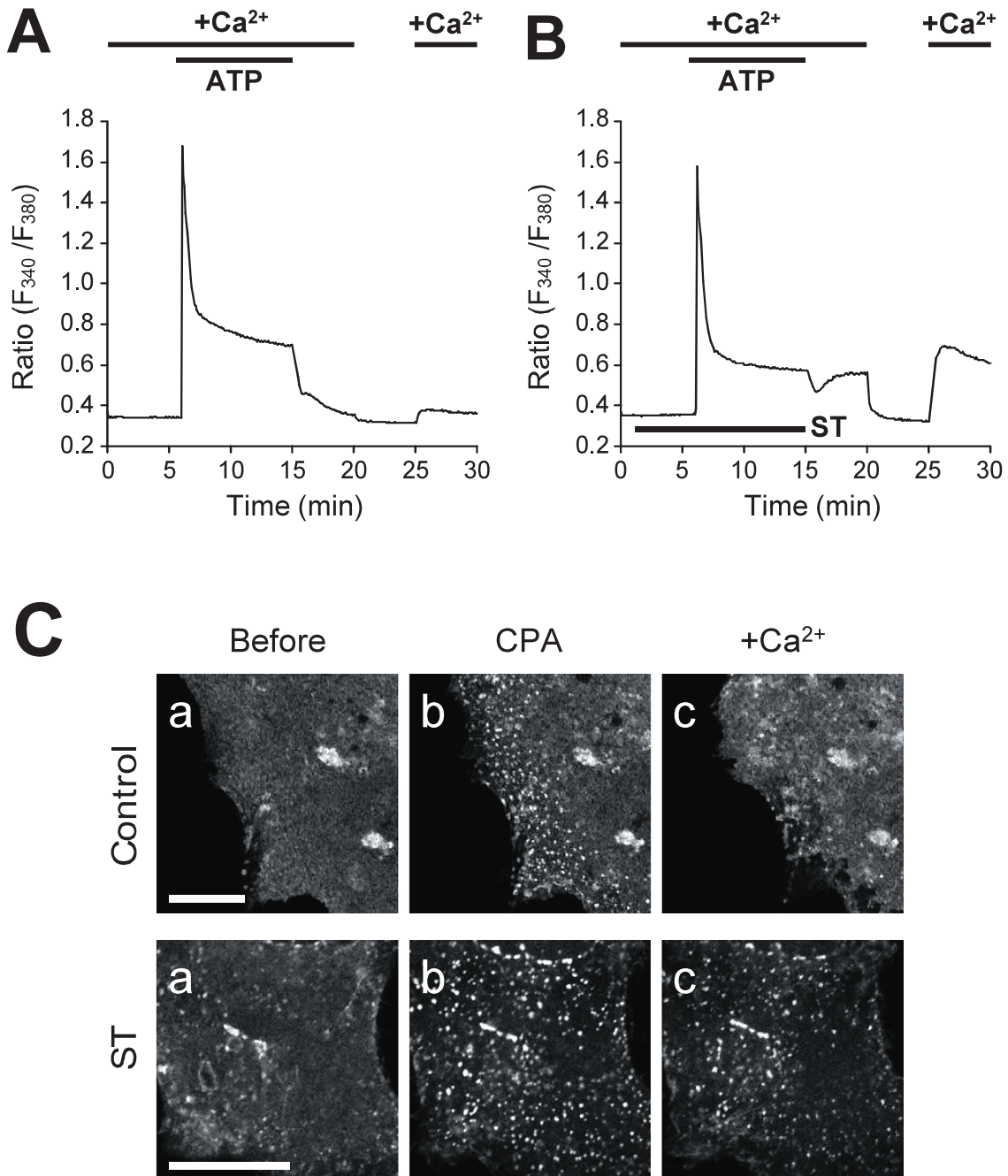


図11. COS-7細胞におけるストア作動性 Ca^{2+} 流入に対するスタウロスポリン (ST) の効果. Control (A) あるいはST処理細胞 (B) をATPで刺激した. ST処理した細胞ではATPを除いても Ca^{2+} 流入が続いた. (C) Venus-Orai1の細胞内分布の共焦点レーザー顕微鏡像. 小胞体 Ca^{2+} ポンプの可逆的阻害薬であるCPAで刺激するとVenus-Orai1の粒状構造が多数形成された. ST処理した細胞では, CPA除去後 Ca^{2+} を添加しても粒状構造は消失しなかった (Tojyo et al., 2013).

ベルに低下し, その後 Ca^{2+} を外液に添加しても $[\text{Ca}^{2+}]_i$ はほとんど上昇しなかった (図11A). ところが, スタウロスポリン (ST) の存在下で刺激した細胞ではATPを除いても $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の高レベルが持続し, 外液 Ca^{2+} を除かない限り低下しなかった. しかも, その後に Ca^{2+} を添加すると, 再び $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇した (図11B). この結果は, STで処理した細胞ではアゴニスト無しでSOCEが続いたことを示している. Ca^{2+} シグナルを研究する者には

理解不能な, 不思議な現象であった.

この結果の説明として, 私は, STがリン酸化阻害を介してOrai1の活性化 (開口) 状態を持続させたのではないかと考えた. そこで, 蛍光タンパク質でラベルしたOrai1 (Venus-Orai1) をCOS-7細胞に強制発現させ, 共焦点レーザー顕微鏡で細胞内の分布を観察した (図11C). 小胞体 Ca^{2+} ポンプの可逆的阻害薬であるCPA (cyclopiazonic acid) を使ってストアを枯渇させたところ,

Venus-Orai1の粒状構造 (puncta) が多数出現した。これはSTIM1との相互作用によってOrai1が活性化したことをうかがわせる。CPAを除いて Ca^{2+} を付加すると、ストアが Ca^{2+} で再充填されるので、コントロール細胞のpunctaはほぼ消失した。ところが、STで処理した細胞では Ca^{2+} を付加してもpunctaは消失せず、Orai1の活性化が続いていることを示していた。STの直接の標的分子がOrai1なのか、それとも他の付属関連分子なのかは不明であるが、私は、Orai1とSTIM1との相互作用が一部リン酸化-脱リン酸化によって調節されているのではないかと考えている。神戸大学のグループは、Orai1の機能がPKCによる調節を受けていることを報告しており (Kawasaki et al., 2010)、今後、SOCEの活性化とリン酸化との関係が研究の焦点になるかも知れない。

我々のCOS-7細胞を使った研究は、最近、Cell Calciumに掲載することができた (Tojyo et al., 2013)。これが私の最後の原著論文かと思うとそれなりに感慨深い。

別の研究だが、薬理の森田講師らは、ラットの顎下腺開口部からSTIM1の遺伝子を導入し、顎下腺細胞にSTIM1を強制発現させることに成功した (Morita et al., 2011)。さらに、STIM1を発現した顎下腺細胞では、SOCEが増大することも確認された (Morita et al., 2013)。この研究は将来、口腔乾燥症の治療に繋がる可能性もあり、これからの発展を期待したい。

12. おわりに

Ca^{2+} 流入のcapacitative modelが発表されたのは1986年である。掲載された雑誌はCell Calciumという、タイプされた原稿がそのまま印刷される、高級感に乏しいB級雑誌であった (現在はインパクトファクターが4.3の中堅雑誌である)。この仮説モデルがその後、最も普遍的な Ca^{2+} 流入機構として確立されるとは、当時何人の研究者がそれを予想したであろうか。このモデルの誕生直後からその研究の流れを知る者にとっては、今日のSOCE研究の爆発的な進展は驚きである。今ではその分子機構がほぼ解明され、ヒトの生理機能や病態ともドッキングされてきた。おそらく近い将来、SOCEは、治療や医薬品のターゲットとしても注目されるようになるだろう。

SOCE研究の歴史は、若い研究者の柔軟な発想がいかにより大きな可能性を生み出すかをよく示している。25年前にこのモデルを知った時、唾液腺の研究がそのベースになっていたこともあり、私は直感的に“これはおもしろい”と感じた。どうやらその時の“直感”は間違っていないようである。今ではSOCEが骨形成やエナメル質形成にも関わっていることが明らかになり、歯科臨

床とも無縁ではない。

SOCEは、私が最も関心を向け、且つ影響を受けた研究主題であり、研究生活も終わりに近づいたのを機に、SOCE研究の歴史を振り返ってみた。私がここで紹介したのは過去のSOCE研究のほんの一部に過ぎないが、SOCEを巡るダイナミックな研究の流れを感じ取っていただければ幸いである。SOCEを含む Ca^{2+} シグナルの研究には非常に高いレベルが求められ、競争も激しく、その中で独創性を出すのは至難の業である。後追いのような研究が多かったが、エベレストのような高みを眺めながらの研究生活は実に刺激的であったし、研究する喜びを味わうことができた。

謝 辞

本学会誌に総説を書く機会を与えてくれた編集委員長の田隈泰信教授に心から感謝申し上げます。また、これまで私と一緒に研究を担ってくれた薬理の谷村明彦教授、森田貴雄講師、根津顕弘講師にお礼申し上げます。

このゲラ刷りの校正中に、capacitative modelの確立に多大な貢献をされた札幌医大薬理の竹村晴夫先生の訃報が届いた。今日のSOCE研究の進展は先生の研究無しには語れない。これまでのご恩に心から感謝すると共に、ご冥福をお祈りしたい。

文 献

- Alvarez J, Montero M & Garcia-Sancho J. Cytochrome P-450 may link intracellular Ca^{2+} stores with plasma membrane Ca^{2+} influx. *Biochem. J.* 274 : 193-197, 1991.
- Baba Y, Hayashi K, Fujii Y, Mizushima A, Watarai H, Wakamori M, Numaga T, Mori Y, Iino M, Hikida M & Kurosaki T. Coupling of STIM1 to store-operated Ca^{2+} entry through its constitutive and inducible movement in the endoplasmic reticulum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 : 16704-16709, 2006.
- Berridge MJ. Capacitative calcium entry. *Biochem. J.* 312 : 1-11, 1995.
- Bird G St J, Bian X, Puntney JW, Jr., Randriamampita C & Tsien RY. Calcium entry signal? *Nature* 373 : 481-482, 1995.
- Fasolato C, Hoth M & Penner R. A GTP-dependent step in the activation mechanism of capacitative calcium influx. *J. Biol. Chem.* 268 : 20737-20740, 1993.
- Feske S, Gwack Y, Prakriya M, Srikanth S, Puppel S-H, Tanasa B, Hogan PG, Lewis RS, Daly M & Rao A. A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogat-

- ing CRAC channel function. *Nature* 441 : 179-185, 2006.
- Feske S, Prakriya M, Rao A & Lewis RS. A severe defect in CRAC Ca^{2+} channel activation and altered K^{+} channel gating in T cells from immunodeficient patients. *J. Exp. Med.* 202 : 651-662, 2005.
- Feske S. CRAC channelopathies. *Pflügers Arch.* 460 : 417-435, 2010.
- Gilon P, Bird G St J, Bian X, Yakel JL & Putney JW, Jr. The Ca^{2+} -mobilizing actions of a Jurkat cell extract on mammalian cells and *Xenopus laevis* oocytes. *J. Biol. Chem.* 270 : 8050-8055, 1995.
- Grynkiewicz G, Poenie M & Tsien RY. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* 260 : 3440-3450, 1985.
- Hardie RC & Minke B. The trp gene is essential for a light-activated Ca^{2+} channel in *Drosophila* photoreceptors. *Neuron* 8 : 643-651, 1992.
- Hokin MR & Hokin LE. Enzyme secretion and the incorporation of P^{32} into phospholipides of pancreas slices. *J. Biol. Chem.* 203 : 967-977, 1953.
- Irvine RF. "Quantal" Ca^{2+} release and the control of Ca^{2+} entry by inositol phosphates : a possible mechanism. *FEBS Lett.* 263 : 5-9, 1990.
- Iwabuchi Y, Aoki C & Masuhara T. Effects of tachykinins on the secretion of fluid and glycoproteins from the submandibular glands of rat, mouse, hamster and guinea pig. *Jap. J. Pharmacol.* 51 : 428-431, 1989.
- Jackson TR, Patterson SI, Thastrup O & Hanley MR. A novel tumour promoter, thapsigargin, transiently increases cytoplasmic free Ca^{2+} without generation of inositol phosphates in NG115-401L neuronal cells. *Biochem. J.* 253 : 81-86, 1988.
- Kawasaki T, Ueyama T, Lange S, Feske N & Saito N. Protein kinase C-induced phosphorylation of Orai1 regulates the intracellular Ca^{2+} level via the store-operated Ca^{2+} . *J. Biol. Chem.* 285 : 25720-25730, 2010.
- Kuno M & Gardner P. Ion channels activated by inositol 1, 4, 5-trisphosphate in plasma membrane of human T-lymphocytes. *Nature* 326, 301-304, 1987.
- Liou J, Kim ML, Heo WD, Jones JT, Myers JW, Ferrell JE, Jr, Meyer T. STIM is a Ca^{2+} sensor essential for Ca^{2+} -store-depletion-triggered Ca^{2+} influx. *Curr. Biol.* 15 : 1235-1241, 2005.
- Liou J, Fivaz M, Inoue T & Meyer T. Live-cell imaging reveals sequential oligomerization and local plasma membrane targeting of stromal interaction molecule 1 after Ca^{2+} store depletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104 : 9301-9306, 2007.
- Liu X, Cheng KT, Bandyopadhyay BC, Pani B, Dietrich A, Paria BC, Swaim WD, Beech D, Yildirim E, Singh BB, Birnbaumer L & Ambudkar IS. Attenuation of store-operated Ca^{2+} current impairs salivary gland fluid secretion in TRPC1 (-/-) mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104 : 17542-17547, 2007.
- Michell RH. Inositol phospholipids and cell surface receptor function. *Biochim. Biophys. Acta* 415 : 81-147, 1975.
- Montero M, Alvarez J & Garcia-Sancho J. Agonist-induced Ca^{2+} influx in human neutrophils is secondary to the emptying of intracellular calcium stores. *Biochem. J.* 277 : 73-79, 1991.
- Morita T, Tanimura A, Shitara A, Suzuki Y, Nezu A, Takuma T & Tojyo Y. Expression of functional Stim1-mKO1 in rat submandibular acinar cells by retrograde ductal injection of an adenoviral vector. *Arch. Oral Biol.* 56 : 1356-1365, 2011.
- Morita T, Nezu A, Tojyo Y & Tanimura A. Enhancement of muscarinic stimulation-induced Ca^{2+} release and entry by adenoviral-mediated gene transfer of Stim-mKO1 to rat submandibular acinar cells in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 439 : 433-437, 2013.
- Morris AP, Gallacher DV, Irvine RF & Petersen OH. Synergism of inositol trisphosphate and tetrakisphosphate in activating Ca^{2+} dependent K^{+} channels. *Nature* 330 : 653-655, 1987.
- Pandolf SJ & Schoeffield-Payne MS. Cyclic GMP mediates the agonist-stimulated increase in plasma membrane calcium entry in the pancreatic acinar cells. *J. Biol. Chem.* 265 : 12846-12853, 1990.
- Petersen OH, Michalak M & Verkhatsky A. Calcium signalling : Past, present and future. *Cell Calcium* 38 : 161-169, 2005.
- Picard C, McCarl C-A, Papolos A, Khalil S, Luthy K, Hivroz C, LeDeist F, Rieux-Laucat F, Rechavi G, Rao A, Fischer A & Feske S. STIM1 mutation associated with a syndrome of immunodeficiency and autoimmunity. *N. Engl. J. Med.* 360 : 1971-1980, 2009.
- Putney JW, Jr. A model for receptor-regulated calcium entry. *Cell Calcium* 7 : 1-12, 1986.
- Putney JW, Jr, McKinney JS, Aub DL & Leslie BA. Phorbol ester-induced protein secretion in rat parotid gland.

- Relationship to the role of inositol lipid breakdown and protein kinase C activation in stimulus-secretion coupling. *Mol. Pharmacol.* 26 : 261-266, 1984.
- Putney JW, Jr. Biphasic modulation of potassium release in rat parotid gland by carbachol and phenylephrine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 198 : 375-384, 1976.
- Putney JW, Jr. Muscarinic, alpha-adrenergic and peptide receptors regulate the same calcium influx sites in the parotid gland. *J. Physiol.* 268 : 139-149, 1977.
- Putney JW, Jr. Capacitative calcium entry revisited. *Cell Calcium* 11 : 611-624, 1990.
- Putney JW, Jr. Recent breakthroughs in the molecular mechanism of capacitative calcium entry (with thoughts on how we got here). *Cell Calcium* 42 : 103-110, 2007.
- Randriamampita C & Tsien RY. Emptying of intracellular Ca²⁺ stores releases a novel small messenger that stimulates Ca²⁺ influx. *Nature* 364 : 809-814, 1993.
- Robinson LJ, Mancarella S, Songsawad D, Tourkova IL, Barnett JB, Gill DL, Soboloff J & Blair HC. Gene disruption of the calcium channel *Orai1* results in inhibition of osteoclast and osteoblast differentiation and impairs skeletal development. *Lab. Invest.* 92 : 1071-1083, 2012.
- Roos J, DiGregorio PJ, Yeromin AV, Ohlsen K, Liudyno M, Zhang S, Safrina O, Kozak JA, Wagner SL, Cahalan MD, Velicelebi G & Stauderman KA. *STIM1*, an essential and conserved component of store-operated Ca²⁺ channel function. *J. Cell Biol.* 169 : 435-445, 2005.
- Rzagalinski BA, Blackmore PF & Rosenthal MD. Arachidonate mobilization is coupled to depletion of intracellular calcium stores and influx of extracellular calcium in differentiated U937 cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1299 : 342-352, 1996.
- Sakai T & Ambudkar IS. Role for protein phosphatase in the regulation of Ca²⁺ influx in parotid gland acinar cells. *Am. J. Physiol.* 271 : C284-C294, 1996.
- Shaw PJ, Qu B, Hoth M & Feske S. Molecular regulation of CRAC channels and their role in lymphocyte function. *Cell. Mol. Life Sci.* 70 : 2637-2656, 2013.
- Singh BB, Zheng C, Liu X, Lockwich T, Liao D, Zhu MX, Birnbaumer L & Ambudkar IS. Trp1-dependent enhancement of salivary gland fluid secretion : role of store-operated calcium entry. *FASEB J.* 15 : 42401-42408, 2001.
- Smyth JT, DeHaven WI, Bird GS & Putney JW, Jr. Ca²⁺-store-dependent and -independent reversal of Stim1 localization and function. *J. Cell Sci.* 121 : 762-772, 2008.
- Streb H, Irvine RF, Berridge MJ & Schulz I. Release of Ca²⁺ from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate. *Nature* 306 : 67-69, 1983.
- Takemura H & Putney, JW, Jr. Capacitative calcium entry in parotid acinar cells. *Biochem. J.* 258 : 409-412, 1989.
- Takemura H, Hughes AR, Thastrup O & Putney, JW, Jr. Activation of calcium entry by the tumor promoter thapsigargin in parotid acinar cells. Evidence that an intracellular calcium pool, and not an inositol phosphate, regulates calcium fluxes at the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 264 : 12266-12271, 1989.
- Takuma T & Ichida T. Phorbol ester stimulates amylase secretion from rat parotid cells. *FEBS Lett.* 199 : 53-56, 1986.
- 谷村明彦, 東城庸介. 唾液分泌とシグナルトランスダクション. *日薬理誌* 127 : 249-255, 2006.
- Thastrup O, Foder B & Scharff O. The calcium mobilizing tumor promoting agent, thapsigargin elevates the platelet cytoplasmic free calcium concentration to a higher steady state level. A possible mechanism of action for the tumor promotion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 142 : 654-660, 1987.
- Thastrup O, Cullen PJ, Droran BK, Hanley MR & Dawson AP. Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca²⁺ stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 2466-2470, 1990.
- 東城庸介. カルシウムシグナルと唾液分泌機能. *北医療大歯誌* 24 : 1-11, 2005.
- Tojyo Y, Matsui S, Tanimura A & Matsumoto Y. Relationship between cytosolic Ca²⁺ concentration and amylase release in rat parotid acinar cells following muscarinic stimulation. *Biochim. Biophys. Acta* 1134 : 278-284, 1992.
- Tojyo Y, Tanimura A & Matsumoto Y. Evidence that substance-P receptors do not exist in mouse parotid and submandibular acinar cells. *Archs Oral Biol.* 38 : 269-271, 1993.
- Tojyo Y, Tanimura A, Matsumoto Y & Sugiya H. Staurosporine enhances Ca²⁺ entry induced by depletion of intracellular Ca²⁺ stores in rat parotid acinar cells. *Cell Calcium* 17 : 32-40, 1995a.
- Tojyo Y, Tanimura A & Matsumoto Y. Suppression of ca-

- pacitative Ca^{2+} entry by serine/threonine phosphatase inhibitors in rat parotid acinar cells. *Jpn J. Pharmacol.* 69 : 381-389, 1995b.
- Tojyo Y, Morita T, Nezu A & Tanimura A. Staurosporine maintains the activation of store-operated Ca^{2+} entry even after the refilling of Ca^{2+} stores. *Cell Calcium* 53 : 349-356, 2013.
- Varnai P., Toth B, Toth DJ, Hunyady L & Balla T. Visualization and manipulation of plasma membrane-endoplasmic reticulum contact sites indicates the presence of additional molecular components within the STIM1-Orai1 complex. *J. Biol. Chem.* 282 : 29678-29690, 2007.
- Vig M, Peinelt C, Beck A, Koomoa DL, Rabah D, Koblan-Huberson M, Kraft S, Turner H, Fleig A, Penner R & Kinet J-P. CRACM1 is a plasma membrane protein essential for store-operated Ca^{2+} entry. *Science* 312 : 1220-1223, 2006.
- Wolf MJ, Wang J, Turk J & Gross RW. Depletion of intracellular calcium stores activates smooth muscle cell calcium-independent phospholipase A_2 . A novel mechanism underlying arachidonic mobilization. *J. Biol. Chem.* 272 : 1522-1526, 1997.
- Xu X, Star RA, Tortorici G & Muallem S. Depletion of intracellular Ca^{2+} stores activates nitric-oxide synthase to generate cGMP and regulate Ca^{2+} influx. *J. Biol. Chem.* 269 : 12645-12653, 1994.
- Zhang SL, Yu Y, Roos J, Kozak JA, Deerinck TJ, Ellisman MH, Stauderman KA & Cahalan MD. STIM1 is a Ca^{2+} sensor that activates CRAC channels and migrates from the Ca^{2+} store to the plasma membrane. *Nature* 437 : 902-905, 2005.
- Zhang SL, Yeromin AV, Zhang X H-F, Yu Y, Safrina O, Penna A, Roos J, Stauderman KA & Cahalan MD. Genome-wide RNAi screen of Ca^{2+} influx identifies genes that regulate Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 : 9357-9362, 2006.



東城 庸介

昭和50年 3月 新潟大学理学部生物学科卒
 昭和52年 3月 新潟大学大学院理学研究科修士課程修了
 昭和52年 4月 新潟大学歯学部薬理学講座 助手
 昭和59年12月 東日本学園大学（現北海道医療大学）歯学部薬理学講座 助教授
 平成11年 6月 北海道医療大学歯学部（薬理学分野）教授
 平成11年 7月～現在 北海道医療大学大学院歯学研究科 教授併任
 平成23年 4月～現在 北海道医療大学歯学部（人間基礎科学）教授