

カルパインの組織機能論

Anatomical view of calpains

反町洋之、秦勝志、小野弥子

東京都医学総合研究所

カルパインプロジェクト

Hiroyuki Sorimachi, Shoji Hata, and Yasuko Ono

Calpain Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

サマリー

多くの多細胞生物は、様々な組織・器官に特定の機能を分担させることで、生存の有利性を獲得した。そこでは発現蛋白質の特異的機能が鍵を握り、Ca²⁺-依存性プロテアーゼであるカルパインも例に漏れない。ヒト分子種の約半数は組織特異的に発現するが、これらは従来の概念を覆す新規な性質を有して、組織特有の機能へ関与することが近年明らかとなった。組織特異的分子種の多くはまだ解析途上だが、カルパインの生理機能を組織機能論から理解することを可能にするだけでなく、カルパインの普遍的作用機序が帰納的に導かれる可能性を秘める。本総説では、カルパイン機能の破綻による病態という観点から、主にマウスを用いた研究より明確になった知見を紹介し、個体のリノベーションへのカルパインの関与について考察する。

キーワード&略語

カルパイン、カルシウム、骨格筋、胃腸、筋ジストロフィー、胃出血、調節的蛋白質分解、自己消化、組織特異的

C2L: C2 domain-like domain (C2ドメイン様ドメイン)、CysPc: calpain-like cysteine protease motif (カルパイン様プロテアーゼモチーフ)、DHPR: dihydropyridine receptor (ジヒドロピリジン受容体)、LGMD: limb-girdle muscular dystrophy (肢帯型筋ジストロフィー)、NCBI: National Center for Biotechnology Information (米国生物工学情報センター)、NSAID: nonsteroidal anti-inflammatory drug (非ステロイド系抗炎症剤)、PEF: penta EF-hand motif (ペンタ EF ハンドモチーフ)、RYR: ryanodine receptor (リアノジン受容体)、SNP: single nucleotide polymorphism (一塩基多型)、SR: sarcoplasmic reticulum (筋小胞体)

はじめに

カルパインは脳に存在する中性プロテアーゼとして発見され、CANPとも呼ばれた¹⁾。現在では多くの生物からカルパイン分子種が同定され、スーパーファミリーとしての全体像が明らかとなった(ゲノム解読済みのほぼ全ての真核生物と 851 種中 42 種(2011 年春現在)の真正細菌に見出されるが、分裂酵母や古細菌には存在しない)¹⁾。これを受けて、これまでコンセンサスに乏しかったカル

パインの命名を系統的に表1のように改名することが推奨されている(新旧名称の対応も表1参照)²⁾。CAPN1は、 μ -calpain 活性サブユニットのことで、従来は μ CL あるいは calpain-1 と呼ばれていた。 μ -calpain は哺乳類で組織普遍的に存在し、最も良く研究されてきた代表的分子種である。このプロテアーゼドメインの配列モチーフは NCBI(米国生物工学情報センター)の Conserved Domain Database では"CysPc"の名称で登録されており、ここでは「CysPc モチーフと有意なアミノ酸配列相同性を示す分子」をカルパインと定義する。CAPN1 は1つの小領域(N)と3つのドメイン(CysPc、C2L、PEF)から構成され、上記の歴史的経緯からこのドメイン構造を古典型(classical calpains)と呼ぶ(図1)。また、CAPN2 を活性サブユニットとする m-calpain と合わせて、両者を哺乳類の conventional calpains と呼ぶ。これらは、活性サブユニットと共通の制御サブユニット CAPNS1(30K と呼ばれた)とが 1:1 のヘテロ二量体を形成して構成される活性酵素複合体である。しかし、この古典型カルパインは一部の動物にのみ存在するだけで、殆どは CysPc-C2L-PEF のドメイン構造を持たない非古典型カルパイン(non-classical calpains)に分類される。非古典型カルパインはさらに複数のサブファミリー(族)に分類され(図1)、中でもカビやハエに存在する PalB 及び SOL サブファミリーはヒトまで広く分布しており、その機能の保存性と分岐性が興味深い¹⁾。ヒトのカルパイン 15 分子種を構造で分類したものが図2であり、発現様式から「組織普遍的」と「組織特異的」分子種に分類することもできる。メカニズムという観点からは、カルパイン生理機能のほとんどは未解明だが、その重要性はここ十年間に進められた遺伝学的解析により因果論的に明確にされた。哺乳類では、組織普遍的に発現する *Capn2* または *Capns1* のノックアウト(KO)マウスが胚性致死となり³⁾、また、組織特異的カルパインの遺伝子変異は、筋ジストロフィーや胃潰瘍など、発現組織の機能不全を引き起こす。さらに、カビ・酵母では PalB 族のカルパイン欠損によりアルカリ応答不全が、ハエでは SOL 遺伝子変異により視神経発生不全が生じる。本稿では紙面の都合上、哺乳類の組織特異的なカルパインに焦点を当てるが、カルパインが重要な生理機能を果たす場として広く生物界全体を視野に入れる必要があることを強調しておきたい。

1. 骨格筋と骨格筋特異的 CAPN3

哺乳類の骨格筋は最大の臓器であり、随意運動、血糖値調節、体温調節(震撼)、内臓保護、さらに、飢餓時には他臓器へのアミノ酸供給源の役割を担う、哺乳類の生存に必須な臓器である。この臓器の重篤な遺伝性疾患の一つが筋ジストロフィーである。筋ジストロフィーは単一遺伝子性の遺伝性疾患で、多くは劣性遺伝であり、筋線維の変性・壊死を主病変とし、進行性の筋力低下を症状とする⁴⁾。その中で、肢帯型筋ジストロフィー(limb-girdle muscular dystrophy(LGMD))2A型の責任遺伝子が CAPN3 をコードする *CAPN3* である⁵⁾。この当時、カルパインの遺伝子変異によって発症する疾患が *CAPN3* 由来のものだけであったため、LGMD2A はカルパインパチーとも呼ばれる。

1) LGMD2A の病態生理学

LGMD2A は特定の地域(フランス・レユニオン島、アメリカ・インディアナ州など)ではかなり高い発

症率(4,000~100人に1人)が報告されている。CAPN3は心筋に発現しないためLGMD2Aでは心筋に症状は見られない。

CAPN3の活性不全がLGMD2Aの根本原因であることは、次の3ステップで解明された。*in vitro*でのLGMD2A変異体の解析に始まり、プロテアーゼ不活性型CAPN3:C129S変異体を発現するトランスジェニックマウスの骨格筋がミオパチー症状を呈したこと、そして *Capn3*^{-/-}マウスだけでなくCAPN3:C129Sのみを発現するノックイン(*Capn3*^{CS/CS})マウスが筋ジストロフィーを呈したこと⁶⁾、である。

CAPN3の*in vitro*基質としては熱ショック蛋白質(HSP)60、フォドリン、カルパスタチン、翻訳系・解糖系・膜輸送などに関与する蛋白質が同定されているが^{6),7),8)}、*in vivo*基質は明確でない。一方で、CAPN3のプロテアーゼ活性が、骨格筋細胞における自身の局在変化および細胞のストレス応答能に関与することが示唆されている^{6),9)}。CAPN3はコネクチンのM線およびN2A領域に直接結合するが、サルコメアの伸長に伴いN2A領域への結合が増加すること、その変化はCAPN3のプロテアーゼ活性に依存すること、が見出された⁶⁾。また野生型マウスは運動ストレスに対してHSP発現高進などの応答を呈するが、*Capn3*^{CS/CS}マウスではそれが認められなかった⁶⁾。つまり、CAPN3には筋細胞の活動レベルに応じてダイナミックに局在を変化させる一種のセンサー分子としての機能があり、N2A領域への集積により、他のシグナル伝達分子(筋アンキリン反復蛋白質など)¹⁰⁾が核からストレス反応を誘導する経路を賦活化するのではないかと考えられる。逆に、筋ジストロフィーの発症・進行はCAPN3依存的なストレス応答機構の不全が蓄積した結果であるともいえる。

2) CAPN3の特性

CAPN3はカルパインに限らず、全プロテアーゼの中で特殊な分子である。まず、古典的カルパイン構造を持つが、Ca²⁺非存在下でも半減期10分弱で消滅するほど強い自己分解活性を示す(従来、筆者らはCAPN3はCa²⁺非依存的と主張していた)。この自己分解活性の調節因子は、相互作用分子である巨大筋弾性蛋白質コネクチン(タイチンとも呼ばれる)である¹⁰⁾。また、この自己分解活性発現にはCAPN3特異的挿入配列IS1及びIS2(図2)が必要である。さらに最近、CAPN3はCa²⁺非存在下では高濃度のNa⁺により活性化され、細胞質(~15 mMのNa⁺が存在する)では、生理的濃度のCa²⁺(~100 nM)によっても活性化される、つまりNa⁺/Ca²⁺依存的プロテアーゼであることを見出した⁸⁾。これはカルパインとしては唯一の、細胞質内酵素としては初めての例である。骨格筋にはCAPN3だけでなくμ-及びm-calpainも発現するが、生理的Ca²⁺濃度では後者はほとんど活性発現しないと考えられる。一方、CAPN3はNa⁺とCa²⁺両方が活性化因子であるため、各イオンの生理的な濃度変化に応じて活性化可能である。この性質は、CAPN3が骨格筋細胞内で機能を果たすために重要であると考えられる⁸⁾。

これに関連して、SR(sarcoplasmic reticulum: 筋小胞体)局在蛋白質とCAPN3の相互作用が注目されている^{11),12)}。骨格筋は筋細胞膜の脱分極による細胞内[Ca²⁺]上昇で収縮するが、この反応ではSRからのCa²⁺放出が重要である。これは、SRの膜蛋白質であるRYR(ryanodine receptor)とT管のDHPR(dihydropyridine receptor)との相互作用により引き起こされるが、同時に筋細胞のごく

近傍では $[Na^+]$ 上昇が観察される。このわずかな細胞内の Na^+/Ca^{2+} 濃度変化によりCAPN3が活性化され、直接・間接的にDHPRとRYRの相互作用を調節する、というのが現在の作業仮説である。 Ca^{2+} または Na^+ によるCAPN3活性化では分解される基質が異なることから、周囲の蛋白質群はCAPN3によって多種多様な機能修飾を受ける可能性がある。

ここで、なぜ、どのようにCAPN3にこのような性質がもたらされたのか、という疑問もわく。細胞外酵素ではあるが、血液凝固因子Xa(セリンプロテアーゼ)は、CAPN3同様に Na^+/Ca^{2+} 依存性であり各イオンの結合サイトが活性中心を挟んで存在する。カルパインのCysPcドメインは2つのサブドメイン(PC1とPC2)に分割でき、それぞれに Ca^{2+} が結合する(図3)。CAPN3ではPC1内の Ca^{2+} 結合部位(CBS-1)に Na^+ も結合することが示唆されている⁸⁾。実は Ca^{2+} と Na^+ のイオン半径はほぼ同じで、ある酵素の金属要求性を変異導入により $K^+ \rightarrow Na^+ \rightarrow Ca^{2+}$ と変えることも可能である¹³⁾。CAPN3においてはCBS-1が Na^+ も結合できるように変異し、それが骨格筋機能との関連で有利であったのだろうか。

2. 胃粘膜と胃腸特異的CAPN8及びCAPN9

胃腸はトポロジー的には外界に接するユニークな構造体であり、特に胃粘膜は、強酸性環境下での外的ストレスに対して様々な粘膜防御機構を駆使して、恒常性を維持している。アルコールやNSAIDs(非ステロイド系抗炎症剤)などは、この防御機構を破壊することで潰瘍性疾患を引き起こす要因ともなる。最近、粘膜防御の中心的役割を果たす表層粘液細胞に発現するCAPN8とCAPN9がプロテアーゼ複合体として胃粘膜防御に機能することが明らかとなった¹⁴⁾。

1) CAPN8とCAPN9

ヒトCAPN8とCAPN9はアミノ酸レベルで約50%の同一性を示す、ともに古典型カルパインである(図2)。胃腸特異的に発現し、特に胃粘膜上皮の表層粘液細胞と腸粘膜上皮の杯細胞に局在する。これまでに、CAPN8については細胞内輸送制御への関与¹⁵⁾、CAPN9についてはガン化機構への関連が示唆されてきた。また、*in vitro*での酵素学的性質が異なることから¹⁶⁾、両者は個別に特有の機能を果たすと考えられていた。

CAPN8とCAPN9各々のKOマウス(*Capn8^{-/-}*及び*Capn9^{-/-}*)は共に外見上異常はなく、週齢に関わらず胃腸での腫瘍形成などは認められなかった。ところが*Capn8^{-/-}*ではCAPN9が、*Capn9^{-/-}*ではCAPN8が、蛋白質レベルで発現低下を示した¹⁴⁾。さらに、野生型マウスの胃粘膜抽出液の解析結果から、CAPN8とCAPN9が複合体CAPN8/9(G-calpainと呼ばれた(G: gastric))を形成していることが明らかとなった。胃粘膜抽出液に Ca^{2+} を添加すると野生型ではCAPN8とCAPN9共に自己消化を起こすが、*Capn8^{-/-}*では残存するCAPN9の活性はほぼ失われていた。このことから、CAPN8/9複合体形成により初めてCAPN8とCAPN9がプロテアーゼとして安定に機能できること、即ち、CAPN8とCAPN9が同一細胞に発現する生理的意義の一つはこの複合体形成であることが

明らかとなった。前述のように conventional calpain は CAPN1 または CAPN2 と CAPNS1 との複合体であるが、現在のところ、CAPN8/9 は複数のカルパイン分子により形成される唯一の例である。

2) *Capn8*^{-/-}と *Capn9*^{-/-}での胃粘膜損傷の増悪傾向

Capn8^{-/-}と *Capn9*^{-/-}に 40%アルコール溶液を投与すると、どちらも野生型に比べて有意に胃粘膜損傷が増悪した。さらに、不活性型 CAPN8:C105S を野生型の代わりに発現するノックインマウス (*Capn8*^{CS/CS}) では、CAPN8/9 複合体は形成するが、胃粘膜損傷実験において *Capn8*^{-/-}と同様の表現型が観察された。以上の結果から、CAPN8 と CAPN9 は胃粘膜防御に機能すること、少なくとも CAPN8 のプロテアーゼ活性は必須であることが明らかになった¹⁴⁾。

CAPN8/9 複合体が発現する表層粘液細胞の機能は、粘液や重炭酸の分泌とともに、粘膜表層への細胞移動と細胞死をバランス良く行き速くターンオーバーすることで粘膜を保護することである。*Capn8*^{-/-}、*Capn9*^{-/-}の表層粘液細胞の粘液産生能は通常時もストレス負荷時も正常であるため、下記の通り CAPN8/9 複合体の機能は表層粘液細胞のターンオーバー制御に関与することが示唆される。

3) CAPN8 及び CAPN9 の多型と胃疾患発症リスクとの関係について

遺伝子の機能を修飾する要素として一塩基多型 (SNP) が注目されているが、ヒト CAPN8 及び CAPN9 ではアミノ酸置換を伴う SNPs が報告されている。この中には、ナンセンス多型 (CAPN8:Q386*) やカルパインファミリーで高く保存された残基の多型 (CAPN9:A102V, R277W) が含まれ、特に CAPN9 の R277 は、CAPN3 の LGMD2A 変異の残基に相当する。*in vitro* アッセイの結果、上記を含め数種の SNPs で活性の減弱・消失が認められた。このことは、特定の SNP を有するヒトでは、CAPN8/9 複合体の機能不全によって外的ストレスに対する胃粘膜の抵抗性が低下しており、潰瘍症状の慢性化・重篤化のリスクが高まることを示唆する。

最近、CAPN8 の細胞移動制御への関与^{17),18)}や NSAIDs 処理細胞におけるカルパイン活性阻害¹⁹⁾が報告された。ここから、CAPN8/9 複合体が表層粘液細胞のターンオーバー制御に関与するならば、損傷した胃粘膜の修復過程で、特に細胞移動の制御を通じて表層粘液細胞の損傷箇所への補充を促進するという機構が考えられる。また、CAPN8、CAPN9 SNPs と胃疾患症例の相関は疫学的にも重要な知見となりうるため、粘膜損傷メカニズムの解明と合わせて、潰瘍性疾患の新しい診断・予防への応用に繋がると期待される。

おわりに

本稿では、カルパイン不全により組織機能の何が損なわれるのか、が比較的明らかな例として組織特異的カルパインが関与する病態をとりあげた。残る組織特異的カルパインである CAPN6, CAPN11, CAPN12 についても発現組織の恒常性に密接な機能を果たすことが強く予想される。特に、CAPN6 の場合は、発現が胎児筋及び胎盤と、時空間特異的に発現し、子宮頸ガン組織における発現亢進も報告されている^{20),21)}。さらに、ヒトカルパインファミリーに属しながら、唯一プロテアーゼ活性中心 Cys が Lys に置換した非プロテアーゼ型という特質をもち、培養細胞レベルで微少管の制御および細胞移動に関与するなど、ユニークな生理機能が報告されているため^{22),23)}、これらの特質が時空間特異的機能とどのような関連を持つのか、組織における機能解析が待望される。

これとは対照的に、組織普遍的な conventional calpain についてはその活性化と症状の重篤化の関係を示唆する報告が多い。そのため、制御機構の重要性が示唆されるものであり、この機構を解明すべく多大な研究活動が行われている^{24),25)}。カルパインに限ったことではないが、一種類の生物種に限っても、同じプロテアーゼファミリーに属しながら、組織普遍的及び特異的分子種が存在することは、その多様性の生理的意義と、その生理機能がどのように分担されてきたのか、など、進化的な観点からも興味深い。

哺乳類のホモログに限っても、多様な機能を果たすカルパインであるが、さらに、生物種を超えて広く生命現象に関わるプロテアーゼファミリーとしてカルパインをとらえ、比較的原始的な生物における作用機構・表現型と、より複雑な形態が実現されているヒト・マウスでの生理機能との関係性に着目する、という方法論からも新たな展開が期待されるように思われる。

文献(紙面の都合上、最近の論文に絞って引用した。他の文献は文献 1, 2 を参照されたい。)

- 1) Sorimachi H., Hata S., Ono Y.: *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **87**: 287-327, 2011
- 2) Sorimachi H., Hata S., Ono Y.: *J. Biochem.* **148**: in press, 2011
- 3) Dutt P., Croall D. E., Arthur S. C. et al: *BMC Dev. Biol.* **6**: DOI:10.1186/1471-1213X-1186-1183, 2006
- 4) Ozawa E.: *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **86**: 798-821, 2010
- 5) Richard I., Broux O., Allamand V. et al: *Cell* **81**: 27-40, 1995
- 6) Ojima K., Kawabata Y., Nakao H. et al: *J. Clin. Invest.* **120**: 2672-2683, 2010
- 7) Ono Y., Hayashi C., Doi N. et al: *Biotechnol. J.* **2**: 565-576, 2007
- 8) Ono Y., Ojima K., Torii F. et al: *J. Biol. Chem.* **285**: 22986-22998, 2010
- 9) Ojima K., Ono Y., Doi N. et al: *J. Biol. Chem.* **282**: 14493-11504, 2007
- 10) Hayashi C., Ono Y., Doi N. et al: *J. Biol. Chem.* **283**: 14801-14814, 2008
- 11) Ojima K., Ono Y., Ottenheijm C. et al: *J. Mol. Biol.* **407**: 439-449, 2011
- 12) Kramerova I., Kudryashova E., Wu B. et al: *Hum. Mol. Genet.* **17**: 3271-3280, 2008
- 13) Bonagura C. A., Bhaskar B., Sundaramoorthy M. et al: *J. Biol. Chem.* **274**: 37827-37833, 1999
- 14) Hata S., Abe M., Suzuki H. et al: *PLoS Genet.* **6**: e1001040, 2010
- 15) Hata S., Koyama S., Kawahara H. et al: *J. Biol. Chem.* **281**: 11214-11224, 2006

- 16) Hata S., Doi N., Kitamura F. et al: *J. Biol. Chem.* **282**: 27847-27856, 2007
- 17) Cousin H., Abbruzzese G., Kerdavid E. et al: *Dev. Cell* **20**: 256-263, 2011
- 18) Raveendran N. N., Silver K., Freeman L. C. et al: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **325**: 389-399, 2008
- 19) Silver K., Leloup L., Freeman L. C. et al: *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **42**: 2030-2036, 2010
- 20) Rho S. B., Byun H. J., Park S. Y. et al: *Cancer Lett.* **271**: 306-313, 2008
- 21) Lee S. J., Kim B. G., Choi Y. L. et al: *Oncol Rep* **19**: 859-863, 2008
- 22) Tonami K., Kurihara Y., Aburatani H. et al: *Mol. Cell. Biol.* **27**: 2548-2561, 2007
- 23) Tonami K., Kurihara Y., Arima S. et al: *J. Cell Sci.* **124**: 1214-1223, 2011
- 24) Nakajima R., Takao K., Huang S. M. et al: *Mol. Brain* **1**: 7, 2008
- 25) Sato K., Minegishi S., Takano J. et al: *J. Neurochem.* **117**: 504-515, 2011

表1 ヒトカルパイン関連遺伝子、遺伝子産物とその名称

遺伝子	染色体位置	遺伝子欠損マウスの表現型	推奨される遺伝子産物名	遺伝子産物名の他の呼び名	推奨される酵素名	酵素名の旧称	古典型	発見		活性中心残基 ^{a)}					ドメイン ^{b)}				
								組織普遍的	組織特異的	注記(発現部位など)	Cys	His	Asn	C2L	C2	PEF			
カルパイン活性サブユニット																			
<i>CAPN1</i>	11q13	platelet dysfunction	<i>CAPN1</i>	μ-calpain large subunit (μCL), calpain-1 μCANP/calpain-1 large subunit, μ80K	<i>CAPN1/S1</i>	μ-calpain	✓	✓				+	+	+	+	-	+		
<i>CAPN2</i>	1q41-q42	embryonic lethal	<i>CAPN2</i>	m-calpain large subunit (mCL), calpain-2, mCANP/calpain-II large subunit, μ80K	<i>CAPN2/S1</i>	m-calpain	✓	✓	赤血球以外			+	+	+	+	-	+		
<i>CAPN3</i>	15q15.1-q21.1	muscular dystrophy	<i>CAPN3</i>	p94, calpain-3, calpain-3a, nCL-1	<i>CAPN3/3</i>	-	✓	✓	骨格筋 (CAPN3/3は <i>in vitro</i> での結果のみ)			+	+	+	+	-	+		
			(<i>CAPN3:ex1B</i> 2-5 7-14 17-24, <i>CAPN3:ex1B</i> 2-5 7-14 17 18B 19-24, etc.)	Lp82, Lp85, etc.			✓	✓	レンズ、網膜(霊長類には存在しない)			+	+	+	+	-	+		
			<i>CAPN3:ex1-14</i> 16-24	p94:Δex15			✓	✓	骨格筋			+	+	+	+	-	+		
			<i>CAPN3:ex1C</i> 2-14 16-24	Up84			✓	✓				+	+	+	+	-	+		
			<i>CAPN3:ex1D</i> 13-24	Tp36					✓	✓	精巣			-	-	-	+/-	-	+
<i>CAPN3:ex1E</i> 19-24	Mp18							✓	✓	メラノーマ			-	-	-	-	+/-		
<i>CAPN5</i>	11q14	sudden death?	<i>CAPN5</i>	calpain-5, hTRA-3, nCL-3				✓		精巣と脳に量が多い			+	+	+	+	+	-	
<i>CAPN6</i>	Xq23	n.r. ^{c)}	<i>CAPN6</i>	calpain-6, calpamodulin, CANPX					✓	胎児筋、胎盤			-	+	+	+	+	-	
<i>CAPN7</i>	3p24	n.r.	<i>CAPN7</i>	calpain-7, PalBH					✓				+	+	+	++	-	-	
<i>CAPN8</i>	1q41	stress-induced gastric ulcer	<i>CAPN8</i>	nCL-2, calpain-8, calpain-8a	<i>CAPN8/9, CAPN8/8</i>	G-calpain, -	✓		✓	胃腸 (CAPN8/8は <i>in vitro</i> での結果のみ)			+	+	+	+	-	+	
			<i>CAPN8:ex1-9</i> 10B	nCL-2', calpain-8b							+	+	+	-	-	-	-		
			<i>CAPN8:ex1-9</i> 11-21	nCL-2:Δex10,17~fs, calpain-8c							+	+	+	+	-	-	+/-		
<i>CAPN9</i>	1q42.11-q	stress-induced gastric ulcer	<i>CAPN9</i>	nCL-4, calpain-9, calpain-9a	<i>CAPN8/9, CAPN9/S1</i>	G-calpain, -	✓	✓	胃腸 (CAPN9/S1は <i>in vitro</i> での結果のみ)			+	+	+	+	-	+		
			<i>CAPN9:ex1-7</i> 9-21	nCL-4:Δex8, calpain-9b			✓				+	+	+	+	-	-	-		
<i>CAPN10</i>	2q37.3	no significant phenotype	<i>CAPN10</i>	calpain-10, calpain-10a									+	+	+	++	-	-	
			<i>CAPN10:ex1-8</i> 9B 10	calpain-10b							+	+	+	+	-	-	-		
			<i>CAPN10:ex1-7</i> 10-12	calpain-10c							+	+	+	+	-	-	-		
			<i>CAPN10:ex1-8</i> 10	calpain-10d					✓		+	+	+	+	-	-	-		
			<i>CAPN10:ex1-7</i> 7B	calpain-10e							+	+	+	+/-	-	-	-		
			<i>CAPN10:ex1-2</i> 3B 4-6	calpain-10f							+	-	-	-	-	-	-		
<i>CAPN10:ex1-2</i> 13-14	calpain-10g							-	-	-	-	-	-	-					
<i>CAPN10:ex1</i> 10-12	calpain-10h							-	-	-	+/-	-	-	-					
<i>CAPN11</i>	6p12	n.r.	<i>CAPN11</i>	calpain-11, μ/mCL (chicken)	<i>CAPN11/S1</i>	μ/m-calpain	✓	✓	精巣 (CAPN11/S1はトリーでのみ同定され、組織普遍的に発現)			+	+	+	+	-	-		
<i>CAPN12</i>	19q13.2	n.r.	<i>CAPN12</i>	calpain-12, calpain-12a, calpain-12A				✓					+	+	+	+	-	+	
			<i>CAPN12:ex1-11</i> 12B	calpain-12b, calpain-12B						✓	毛包			+	+	+	+/-	-	-
			<i>CAPN12:ex1-11</i> 13	calpain-12c, calpain-12C										+	+	+	+/-	-	-
			<i>CAPN12:ex1-9</i> 20-21	calpain-12d (mouse)										+	+	+	-	-	-
<i>CAPN13</i>	2p22-p21	n.r.	<i>CAPN13</i>	calpain-13				✓	✓			+	+	+	+	-	+		
<i>CAPN14</i>	2p23.1-p2	n.r.	<i>CAPN14</i>	calpain-14				✓	✓			+	+	+	+	-	+		
<i>CAPN15 /SOLH</i>	16p13.3	n.r.	<i>CAPN15</i>	calpain-15, SOLH					✓			+	+	+	-	-	-		
<i>CAPN16 /C6orf103</i>	6q24.3	n.r.	<i>CAPN16</i>	Demi-calpain, calpain-16, C6orf103					✓			+	-	-	-	-	-		
制御サブユニット																			
<i>CAPNS1</i>	19q13.1	embryonic lethal	<i>CAPNS1</i>	CANP/calpain small subunit, 30K, css1, calpain-s1, calpain-4, CAPN4					✓			-	-	-	-	-	-	+	
<i>CAPNS2</i>	16q12.2	n.r.	<i>CAPNS2</i>	calpain small subunit 2, 30K-2, css2, calpain-s2					✓	食道に量が多い			-	-	-	-	-	+	
阻害タンパク質																			
<i>CAST</i>	5q15	excitotoxicity in neuronal cells	<i>calpastatin</i>	CANP inhibitor					✓			-	-	-	-	-	-	-	

^{a)} +はカルパインファミリー全体で良く保存された活性中心の3残基が各々存在すること、-はその部位が存在しないか、他の残基がその位置に存在すること、を示す。

^{b)} +または-は各々、該当するドメインを(++は2個)有する、または、有しない事を示し、+/-はそのドメインの一部のみを有することを示す。

^{c)} 未だ報告されていない。

図の説明

図 1 カルパインのドメイン構造と分類

A. conventional calpain のドメイン構造。歴史的に様々な区切りと呼び方が存在したが、本総説では最下段を採用する。

B. 様々な生物のカルパインのドメイン構造を模式的に分類して示した。古典型及び非古典型の 2 つのドメイン構造に分類され、後者はさらに数個のサブファミリー(族)に分類される。

PC1, PC2: CysPc 領域の 2 つのサブドメイン; C2L: C2ドメイン様 Ca^{2+} -結合領域; PEF(L), PEF(S): 活性または制御サブユニットの PEFドメイン; GR: Gly に富んだ疎水性領域; C2: C2ドメイン; SOH: SOL 相同領域; MIT: 微小管相互作用モチーフ; Zn: Zn-フィンガーモチーフ

図 2 ヒトカルパインの構造と分類

A. ヒトカルパインの分子系統樹。図 1 に示した構造の分類にはほぼ従った形で分岐している。

B. ヒトの主要なカルパインの構造を模式的に分類して示した。発現は普遍型(黒字)と組織特異型(反転白字)に分かれる。表 1 も参照。

NS, IS1, IS2: CAPN3 に特徴的な配列; IQ: カルモジュリン相互作用モチーフ; 他は図 1 を参照。

図 3 ファクターXa とカルパイン CysPc ドメインの立体構造

A. ファクターXa と $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ の共結晶構造 (Protein Data Bank Accession No. (PDB AcNo.) 2VVU を用いた)。

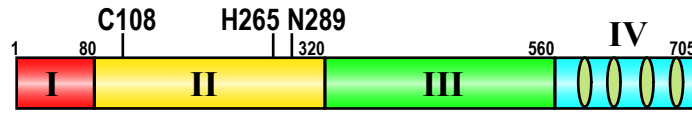
B. CAPN1 の CysPc ドメインと $2 \times \text{Ca}^{2+}$ の共結晶構造 (PDB AcNo. 2R9C を用いた)。

どちらも、活性中心を挟むように 2 つのイオンが結合しており、CAPN3 では PC1 の Ca^{2+} 結合部位 (CBS-1) に Na^+ も結合可能になっていると考えられる。描画は MolFeat Ver.4.5 (FiatLux 社) による交差視立体図。

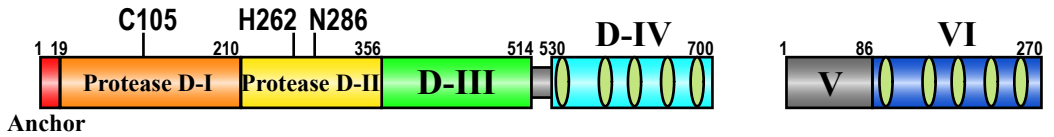
図1

A

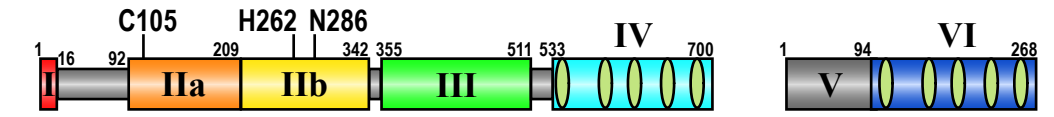
Ohno *et al* *Nature* 1984
(トリ calpain-11)



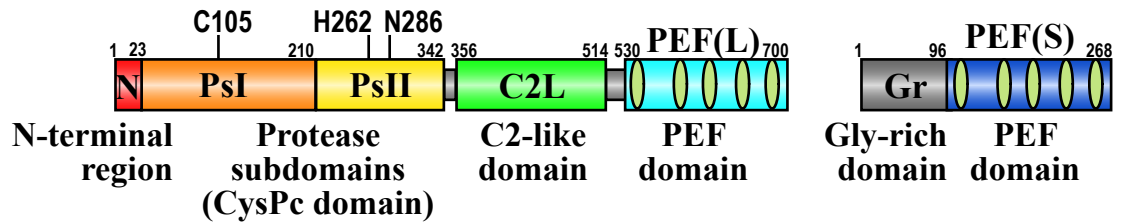
Hosfield *et al* *EMBO J* 1999
(ラット m-calpain)



Strobl *et al* *PNAS* 2000
(ヒト m-calpain)



in this review
(ヒト m-calpain)



B

● 典型型

● 非典型型

● PaIB 族

● PaIB グループ

● TRA-3 グループ

● calpain-10 グループ

● SOL 族

● DEK1 族

● bacterial calpain 族

● demi-calpain 族

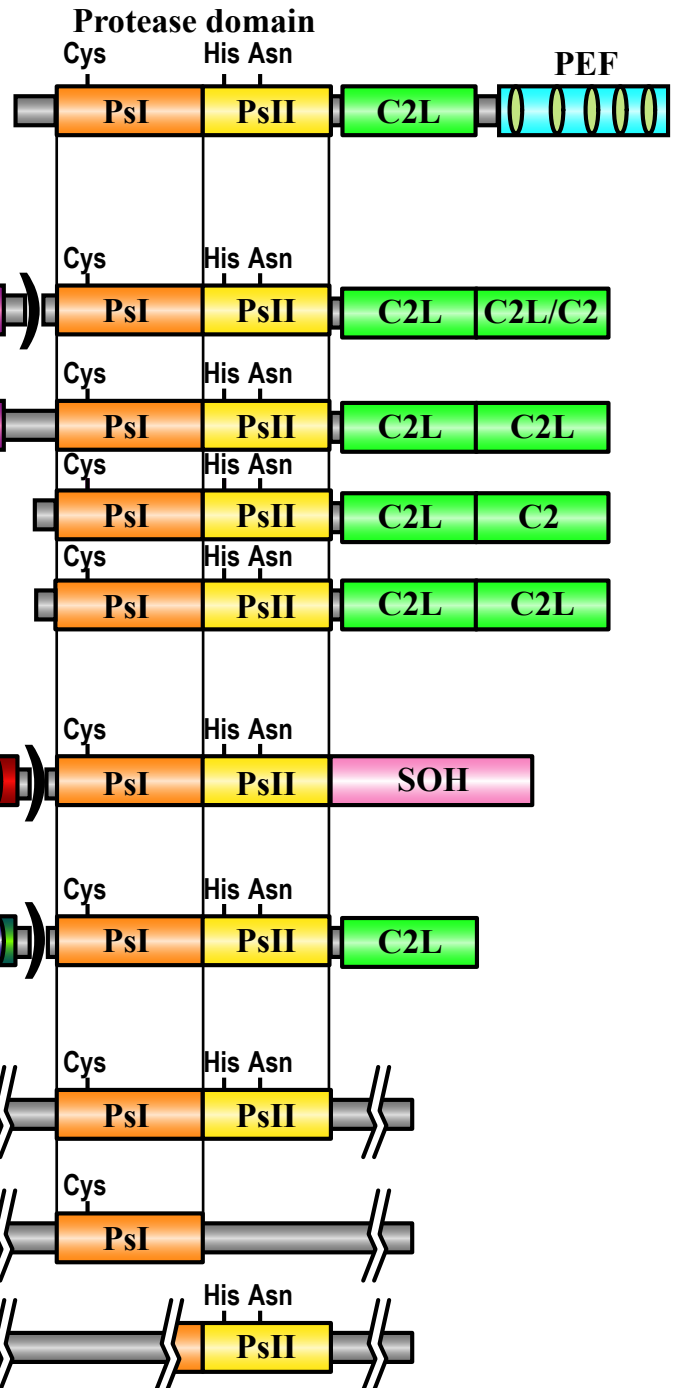
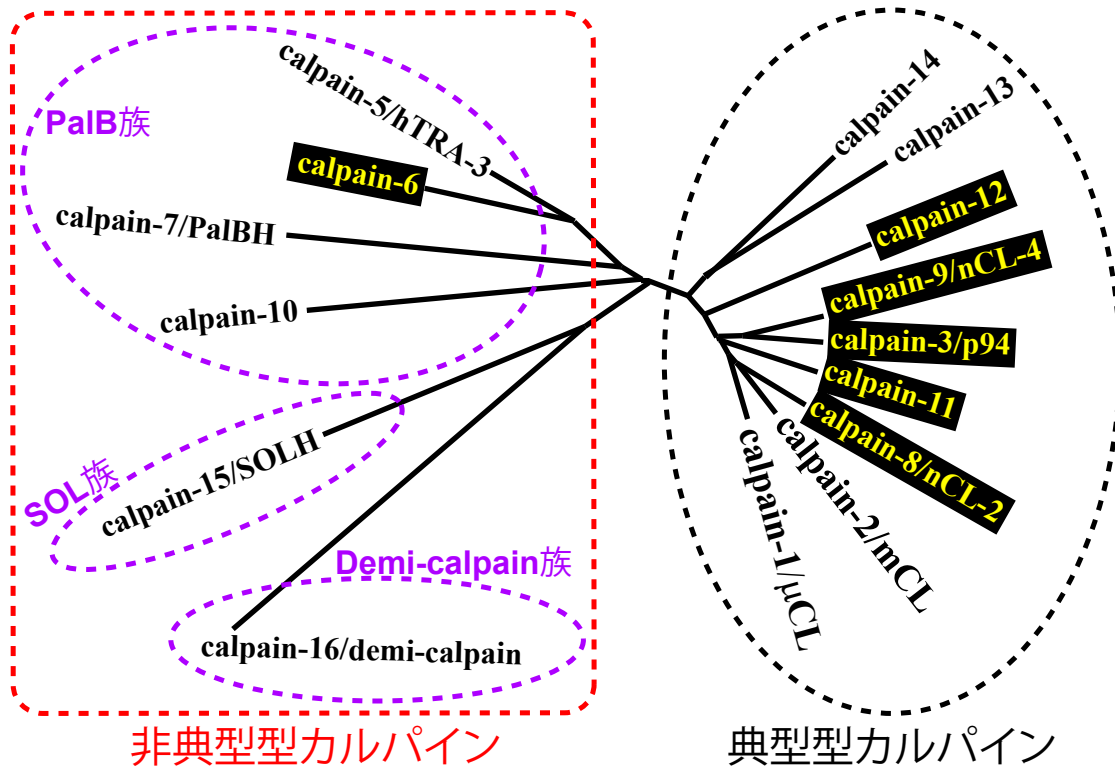


図2

A



B

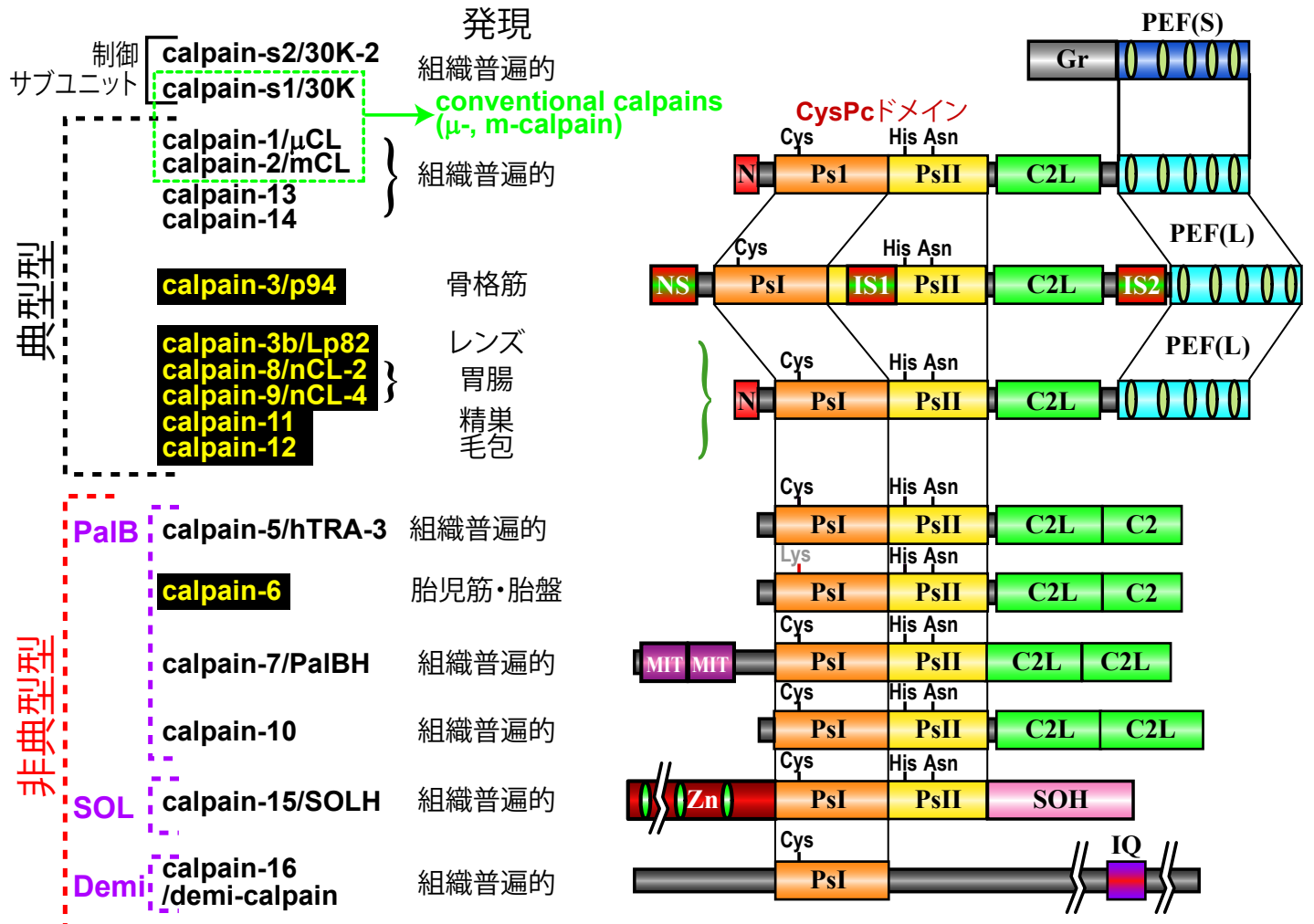
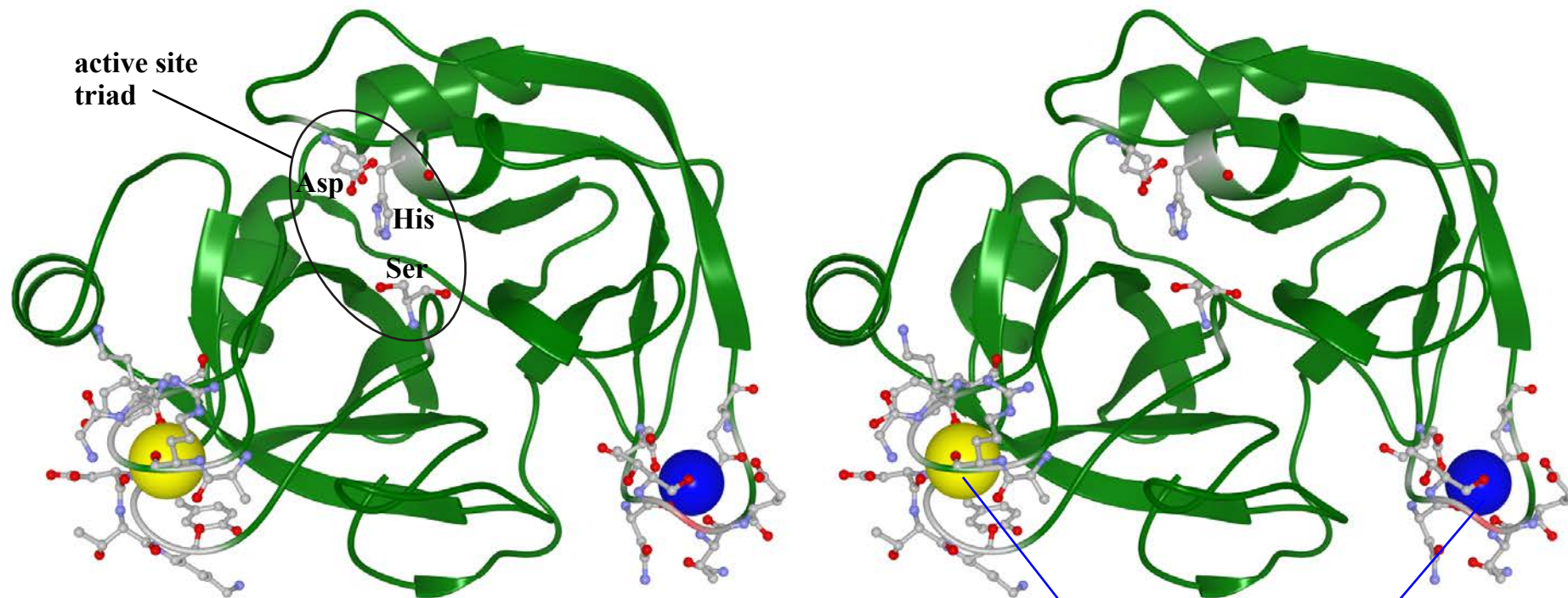


图 3

A



B

