

| | | | |
|---------|--------------------------------------------------|---------|---------|
| 氏名 | 林 美都子 | | |
| 授与した学位 | 博 士 | | |
| 専攻分野の名称 | 薬 学 | | |
| 学位授与番号 | 博甲第 2082 号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成 12 年 3 月 25 日 | | |
| 学位授与の要件 | 自然科学研究科生体調節科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当) | | |
| 学位論文の題目 | 内分泌細胞におけるシナプス小胞様オルガネラ (マイクロベジクル) の構造と機能に関する研究 | | |
| 論文審査委員 | 教授 森山芳則 | 教授 篠田純男 | 教授 土屋友房 |

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

近年、内分泌細胞において、マイクロベジクルと呼ばれる新規の酸性オルガネラが見いだされている。マイクロベジクルは形態学的に分泌顆粒とは異なっており、神経のシナプス小胞に類似している。また、シナプス小胞の指標蛋白を含んでいることから、内分泌細胞のシナプス小胞と考えられている。しかしながら、その生理機能については殆ど分かっていない。

申請者が所属する研究室では、メラトニン合成器官である松果体を用い、マイクロベジクルがどのような生理機能を持っているのかを調べている。これまでに、生化学的な手法により、松果体より単離したマイクロベジクルが液胞型 H^+ -輸送性ATPase (V-ATPase) を駆動力にして神経伝達物質であるグルタミン酸を濃縮すること、グルタミン酸の開口放出に関与することを見いだした。そして、放出されたグルタミン酸は、グルタミン酸受容体を介してメラトニンの合成および分泌を抑制することを明らかにした。

以上の発見は、松果体細胞がバラクリン様の細胞間伝達機能を持ち、自身の内分泌機能を制御していることを示唆している。しかし、これまで得られた知見は、主として生化学的な知見に基づくものであり、個々の松果体細胞においてマイクロベジクルやグルタミン酸の情報伝達系がどのように局在し機能しているのかは未解決であった。

そこで、本研究において、特に組織化学的手法を用い、マイクロベジクルの性質とバラクリン様の情報伝達系に関与する因子をオルガネラレベル・単一細胞レベルで解析した。その結果、個々の松果体細胞にグルタミン酸を含んだマイクロベジクルが存在していること、マイクロベジクルに開口放出に必要な蛋白が局在していることを証明した。さらに、新たなシナプス小胞特異蛋白であるSV2B (synaptic vesicle protein 2B) がマイクロベジクルに存在することを見いだした。また、生細胞のマイクロベジクルの内部pHを定量し、実際にV-ATPaseによりグルタミン酸の濃縮に必要なプロトンの濃度勾配が形成されていることを証明した。これは、生理的条件下での神経伝達物質を濃縮する小胞の内部pHの定量に成功した最初の報告である。そして、マイクロベジクルより放出されたグルタミン酸が、隣接する細胞に伝達されるために必要な受容体とグルタミン酸輸送体の局在を調べた。更にマイクロベジクルとは別の、セロトニンを濃縮する新たな小胞が存在することを見いだした。本研究で得られた知見をもとに新しい内分泌制御機構を考察した。

論文審査結果の要旨

内分泌細胞には、ホルモン分泌顆粒以外に、シナプス小胞に類似したマイクロベジクルと呼ばれる分泌小胞が存在している。本研究はメラトニンの内分泌器官である松果体を用い、このオルガネラの構造と機能を特に組織化学的な方法を駆使して解析したものである。以下に要約できる成果を修めた。すなわち、(1) 間接蛍光抗体法、電子顕微鏡法、ならびに免疫電子顕微鏡法により、マイクロベジクルの細胞内局在性と構成タンパクを調べた。マイクロベジクルはシナプス小胞の各種の指標蛋白、SNARE complex ならびに V-ATPase を含んでおり、内部にグルタミン酸を濃縮していた。特にプロセス末端部位に充満していた。(2) DAMP 法により、生細胞中のマイクロベジクルの内部 pH を定量した。マイクロベジクル内部の pH は 5.07 ± 0.07 であった。この酸性 pH は、V-ATPase により形成維持されていた。(3) マイクロベジクルより放出されたグルタミン酸信号を受け取る各種受容体と、信号を終止させるための Na^+ 依存性グルタミン酸輸送体等の細胞内局在性を明らかにした。(4) さらに、マイクロベジクルとは別の、セロトニンを濃縮する新たな小胞を見だしその性質を解析した。これらの成果は本研究分野で最先端のものであり、極めて学術的な価値が高い。本研究の成果から新しいタイプの内分泌制御機構の存在が推定された。この成果は今後、医学・薬学的に広く応用できるものである。以上、博士号を授与するにふさわしい成果であると判定した。