

氏名	日浅 未来
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博甲第 4109 号
学位授与の日付	平成 22 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	ほ乳類の MATE 型トランスポーター及び小胞型ヌクレオチドトランスポーターの局在と生理的意義に関する研究
論文審査委員	教授 森山 芳則 准教授 杉本 幸雄 准教授 大河原 賢一

学位論文内容の要旨

本研究のテーマである vesicular nucleotide transporter、VNUT は ATP を含む様々なヌクレオチドを基質とする小胞型のトランスポーターである。RNA 干渉により VNUT の発現を特異的に抑制すると ATP 分泌が低下することから、VNUT は ATP の放出に重要であると考えられる。本研究では、齧歯類を用いて VNUT が発現している組織、細胞を明らかにし、さらに VNUT のプリン作動性化学伝達における生理的意義を明らかにしようと試みた。

まず、間接蛍光抗体法を用いて齧歯類の全身での VNUT の局在を調べたところ、その発現場所はこれまで受容体研究の見地からプリン作動性化学伝達の存在が明らかとなっている箇所と一致していた。さらにマウス VNUT の精製・再構成系を用いた ATP 輸送測定により、マウス VNUT がヒト VNUT と同様に ATP 及び ADP 輸送機能を持ち、その基質特異性もヒト VNUT と同じパターンであることを示した。

次に、VNUT の生体内における生理的意義を明らかにするために、アストロサイトと血小板における VNUT の局在及び機能を免疫組織化学、生化学、分子生物学的アプローチにより解析した。アストロサイトと血小板において VNUT 局在小胞、つまり ATP 蓄積小胞を特定し、さらにこれらの細胞からの ATP 分泌は開口放出によるものであること、その開口放出に VNUT が必須であることを見いだした。

一連の研究結果より、VNUT はプリン作動性化学伝達において小胞内への ATP 濃縮と開口放出にあずかる重要な分子であり、生体内のいたるところに分布し、機能しているものと考えられることができる。

さらに私はほ乳類の MATE (multidrug and toxic compound extrusion) 型トランスポーターについて解析した。ヒトとマウス MATE の解析により、ほ乳類の MATE が 3 つのサブグループに分類できる事を見いだした。さらにほ乳類の MATE は本質的にプロトンと共役した有機カチオントランスポーターであることが明らかとなった。クラス 1 は腎肝だけでなく、グリア細胞や内分泌細胞等多彩な組織に局在し、薬物の排出だけでなく代謝物の体内動態を司っている。クラス 2 は、腎臓特異的に発現する薬物排出トランスポーターであり、クラス 3 は精巣や副腎で特異的に発現し、ステロイドホルモンの分泌に関与している。以上のことから、MATE は腎臓・肝臓での老廃物や薬物の排出システムとしてだけではなく、疎水性ホルモン等の体内動態にも関与するトランスポーターであると結論した。

論文審査結果の要旨

日浅は、博士論文としてはほ乳類におけるMATE及びATPトランスポーターの発現と生理的意義に関する研究を行った。いずれのトランスポーターも当研究室が発見したものであり、前者はカチオン性薬物や代謝物の体内動態と排出に、後者はプリン性化学伝達の必須因子として、薬学的医学的に重要である。

まず、日浅はほ乳類が持つMATEトランスポーターが3つに分類できることを指摘し、それぞれの発現場所を同定、cDNAをクローン化して発現させ、トランスポーターの生理的意義を追求した。ヒトを含むほ乳類のMATEトランスポーターの全体像は解明できた。

この研究を終えた後、プリン性化学伝達系の要分子である小胞型ヌクレオチドトランスポーターVNUTをプローブとして用い、神経、一部のアストロサイトをはじめ、膵臓の β 細胞や膀胱、さらに血小板などにVNUTが大量に発現することを見いだした。続いて、日浅は、これらの細胞におけるVNUTの生理的意義につき詳細に解析した。その結果、例えば、神経においては一部の分泌顆粒とシナプス小胞に、アストロサイトにおいてはdense granuleと呼ばれる顆粒に活性を維持したVNUTが存在していること、その機能をRNA干渉法により特異的に抑制すると、ATPの分泌が定量的に阻害されることを見いだした。すなわち日浅により、どの細胞がどのような様式でATPを分泌し、プリン性化学伝達を開始するのか、という一大問題を解くことができた。シグナル伝達研究の中でも画期的な成果である。

以上により、本論文が博士論文として優れたものであることは、明白である。