

氏 名	森山 理美
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 科 学
学位記授与番号	博甲 第 5604 号
学位授与の日付	平成 29 年 9 月 29 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 薬科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	小胞型グルタミン酸トランスポーター1 スプライシングバリエント (VGLUT1v) の局在と機能に関する研究
論 文 審 査 委 員	教 授 山下 敦子 (主査) 教 授 須藤 雄気 准教授 古田 和幸

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

小胞型グルタミン酸トランスポーター (Vesicular glutamate transporter : VGLUT) は、シナプス小胞内にグルタミン酸を充填する SLC17 ファミリーに属する能動輸送体であり、グルタミン酸作動性化学伝達に必須である。VGLUT には、VGLUT1、VGLUT2、VGLUT3 の 3 つのアイソフォームが存在しており、それぞれ発現する部位が異なっている。

2006 年、齧歯類の網膜と松果体に VGLUT1 スプライシングバリエントの mRNA が同定された。このスプライシングバリエント (以下、VGLUT1v と略) は、VGLUT1 遺伝子の第 2 エクソンと第 3 エクソン間に 75 塩基 (すなわち 25 アミノ酸残基) が挿入されたものであり、挿入位置は翻訳産物の小胞内腔ループに当たると推定されている。これまで VGLUT1v mRNA が翻訳され新規の VGLUT バリエントとして機能しているかどうかは全くわかっていなかった。本研究は、VGLUT1v がタンパク質として存在することを実証し、VGLUT1v の輸送機能及び網膜における局在を解明することを目的とした。

VGLUT1v を特異的に認識する抗血清を調製し、これを用いて VGLUT 1v が網膜においてタンパク質レベルで発現していることを明らかにした。続いて VGLUT1v を Sf 9 昆虫細胞に大量発現させ精製した。精製 VGLUT1v をリポソームに再構成し、VGLUT1v が ①膜電位依存的にグルタミン酸を小胞内へ輸送すること、②VGLUT1v には Cl⁻結合部位が存在し、その活性に Cl⁻が必要であるということを示した。速度論的解析も含めて、VGLUT1v は他のアイソフォームと同様の性質を有することが判明した。さらに、免疫組織化学法を用いて、

VGLUT1v が視細胞の分泌小胞に局在し、松果体細胞においても発現していることを明らかにした。VGLUT1v はそれ以外の組織には発現していなかった。

以上の結果から、VGLUT1v は齧歯類の視細胞や松果体細胞においてグルタミン酸の小胞内充填を司っていると結論した。VGLUT1v に挿入された 25 アミノ酸残基の意義は不明だが、光による情報伝達に関わっていることが示唆された。

論文審査結果の要旨

提出された初稿では、分野の研究背景・研究の位置づけ、実験方法の記述および得られた結果の解釈、それらに基づく議論に不十分な点が見られたが、二回の口頭試問および改訂を経て最終的に提出された論文では、これらの点が改善され、質的および量的に学位授与の基準を満たす内容であることが認められた。また、口頭試問により、論文内容が申請者自身による研究成果であると判断された。この学位論文の内容は、小胞型神経伝達物質輸送体スプライスバリエントの生化学的機能や網膜における局在を報告するものであり、同輸送体群が関わる生化学・生理学の進展に資する知見を提供するものである。以上から、審査結果を合とする。