

氏 名 宮地 孝明

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 3857 号

学位授与の日付 平成 21 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 6 項該当)

学位論文の題目 小胞型アスパラギン酸トランスポーターの発見とその生理的意義について

論文審査委員 教授 森山 芳則 准教授 檜垣 和孝 准教授 埴岡 伸光

学位論文内容の要旨

アスパラギン酸は NMDA 受容体の天然のリガンドであり、海馬神経のシナプス小胞や松果体のシナプス小胞様オルガネラに含まれ、開口放出されることが知られている。しかしながら、どのような機構でアスパラギン酸が小胞内へ濃縮されるのか全くわかっていない。そのため、アスパラギン酸はグルタミン酸に次ぐ脳内に多量に存在する興奮性アミノ酸であるにも関わらず、アスパラギン酸化学伝達が本当に存在するのか未だに議論されている。

私は小胞内の濃縮を司る小胞型アスパラギン酸トランスポーターの候補として、リソソームの H⁺/シアル酸トランスポーターであるシアリン (SLC17A5) に着目した。なぜなら、シアリンはリソソーム以外のオルガネラに広く分布しており、他の輸送機能も想定されたことと、シアリンが属する SLC17 ファミリーの他のメンバーはいずれも膜電位駆動型のアニオン輸送活性を持ち、特にシアリンは小胞型グルタミン酸トランスポーター (VGLUT) と高い相同性を示していたからである。シアリンも膜電位をかけるとアスパラギン酸が輸送されるのではないかと考えた。

精製シアリンをリソソームに組み込み、膜電位をかけると、予想通りアスパラギン酸が輸送された。さらに、私は、シアリンが海馬神経のアスパラギン酸含有シナプス小胞や松果体のシナプス小胞様オルガネラに局在していること、この部位でのシアリンの発現を RNA 干渉法で抑制するとアスパラギン酸の開口放出が抑制されることを示した。以上の結果から、シアリンは小胞型アスパラギン酸トランスポーターであると結論した。シアリンはアスパラギン酸だけでなく、グルタミン酸も輸送したため、小胞型興奮性アミノ酸トランスポーター (Vesicular Excitatory Amino acid Transporter: VEAT) と名付けた。

シアリンが VEAT であるという結果は、シアリン遺伝子の変異により引き起こされるシアル酸蓄積症の未解決問題を解く鍵となる可能性がある。シアル酸蓄積症は、乳児シアル酸蓄積症 (ISSD) とサラ病に分類される。ISSD は典型的なリソソーム病の特徴を示し、リソソームへのシアル酸蓄積による病変から生後二年ほどで死に至る。一方、サラ病は致死性ではないが強い神経障害を引き起こすことを特徴とする。サラ病を引き起こす変異シアリンのシアル酸輸送活性はある程度保たれているため、本当にサラ病の原因がシアル酸輸送活性の低下によるものなのか疑問視されていた。私は、サラ病を引き起こす変異シアリンにアスパラギン酸、グルタミン酸輸送活性が全くないことと、ISSD を引き起こす変異シアリンにはシアル酸輸送活性が全くないが、アスパラギン酸、グルタミン酸輸送活性は保持されていることを見いだした。これはサラ病がアスパラギン酸とグルタミン酸化学伝達の欠損症であることを示唆している。

論文審査結果の要旨

アスパラギン酸は NMDA 受容体の天然のリガンドであり、海馬神経のシナプス小胞や松果体のシナプス小胞様オルガネラに含まれ、開口放出されることが知られている。しかしながら、どのような機構でアスパラギン酸が小胞内へ濃縮されるのか全くわかっていない。そのため、アスパラギン酸はグルタミン酸に次ぐ脳内に多量に存在する興奮性アミノ酸であるにも関わらず、アスパラギン酸化学伝達が本当に存在するのか未だに議論されている状態であった。

宮地は本論文において、小胞内の濃縮を司る小胞型アスパラギン酸トランスポーターの候補として、リソソームの H^+ /シアル酸トランスポーターであるシアリン (SLC17A5) に着目した。なぜなら、シアリンはリソソーム以外のオルガネラに広く分布しており、他の輸送機能も想定されたことと、シアリンが属する SLC17 ファミリーの他のメンバーはいずれも膜電位駆動型のアニオン輸送活性を持ち、特にシアリンは小胞型グルタミン酸トランスポーター (VGLUT) と高い相同性を示していたからである。予想通り精製シアリンを組み込んだリポソームは膜電位を駆動力とするアスパラギン酸輸送活性を示した。さらに、宮地はシアリンが海馬神経のアスパラギン酸含有シナプス小胞や松果体のシナプス小胞様オルガネラに局在していること、この部位でのシアリンの発現を RNA 干渉法で抑制するとアスパラギン酸の開口放出が抑制されることを証明した。以上の結果から、シアリンは小胞型アスパラギン酸トランスポーターであると結論した。シアリンはアスパラギン酸だけでなく、グルタミン酸も輸送したため、小胞型興奮性アミノ酸トランスポーター (VEAT) と名付けた。シアル酸蓄積症は、致死性である乳児シアル酸蓄積症 (ISSD) と強い神経障害を引き起こすサラ病に分類される。サラ病を引き起こす変異シアリンのシアル酸輸送活性はある程度保たれているため、本当にサラ病の原因がシアル酸輸送活性の低下によるものなのか疑問視されていた。宮地は、サラ病を引き起こす変異シアリンにアスパラギン酸、グルタミン酸輸送活性が全くないことと、ISSD を引き起こす変異シアリンにはシアル酸輸送活性が全くないが、アスパラギン酸、グルタミン酸輸送活性は保持されていることを見だし、サラ病がアスパラギン酸とグルタミン酸化学伝達の欠損症であることを示唆した。以上の結果は化学伝達研究において全く新しい分野を創成したことと同値であり、博士論文として誠にふさわしい。