

氏名	松尾 俊佑
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬科学
学位授与番号	博乙第4519号
学位授与の日付	令和2年9月25日
学位授与の要件	博士の論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	促進性グルコーストランスポーターGLUT12の機能と発現に関する研究
論文審査委員	教授 垣内 力 (主査) 准教授 井上 剛 准教授 安井 典久

学位論文内容の要旨

GLUT12は *facilitative glucose transporter* に属するトランスポーターであり、細胞内在性を示すクラス IIIに分類される。代謝組織では GLUT4 と同様のインスリン感受性が報告されているが、GLUT12 は骨格筋や脂肪細胞だけでなく、小腸、胎盤、心臓、前立腺、脳、腎臓など生体に広く分布している。腎臓の遠位尿細管や集合管では GLUT12 はアピカル側に発現していることやプロトン勾配、ナトリウム勾配で輸送が制御される事が報告されている。これらのことから GLUT4 のようなインスリン依存性のグルコース輸送だけが GLUT12 の機能ではない可能性が示唆される。これまでの GLUT12 の輸送活性は培養細胞を用いて解析されており、D-グルコースは細胞内で代謝されるため 2-デオキシグルコースなどのグルコースアナログが使用されている。これに対し、精製タンパク質のリポソーム再構成系では細胞内代謝の影響を受けることなく、本来の基質である D-グルコースを用いた実験が可能である。このようなシステムでの解析は GLUT12 では行われていない。また、GLUT12 の局在に関する情報が不十分であり、生理機能は不明なままである。

本研究では大腸菌での発現・精製再構成系を用いて GLUT12 を精製し、基礎的なグルコース輸送機能の解明と、免疫組織化学法を用いた詳細な発現部位の解析を目的とし実験を行った。

精製トランスポーターをリポソームに再構成したところ時間依存的なグルコース輸送活性が見られ、GLUT12 は GLUT1 と同様にグルコースに対する高い親和性を示した。GLUT12 のグルコース輸送活性はフロレチンに加えデヒドロアスコルビン酸、マルトース、スクロース、ATP、ADP、グルコース-1-リン酸およびグルコース-6-リン酸により阻害された。一方で、アスコルビン酸、ガラクトース、フルクトースは影響しなかった。これらの性質は GLUT1 と同様であった。

マウス組織にて抗 GLUT12 抗体を用いて免疫染色法を行った。その結果、腸管においてマウス GLUT12 は小腸の上皮細胞やその他の広い範囲に発現がみられた。腎臓では遠位尿細管、集合管で発現が見られた。特に集合管のアピカル側には強いシグナルが得られた。加えて、GLUT12 は副腎髄質、脳下垂体前葉、甲状腺などの内分泌細胞に特に多く発現していることが明らかになった。

本研究により、大腸菌発現系による GLUT12 発現・精製、輸送活性測定系を構築した。精製ヒト GLUT12 は GLUT1 と同様のグルコース輸送活性を示した。GLUT12 はデヒドロアスコルビン酸が基質であることや ATP によって制御されている可能性がある。また、免疫組織化学法によりマウス GLUT12 の新たな発現部位を特定した。消化管だけでなく、腎臓や分泌組織に発現していることから、これらの組織において、

細胞内膜系に発現する GLUT12 はグルコース輸送だけではなく、その他の機能を有している可能性が示唆される。

論文審査結果の要旨

審査結果に至った理由: グルコーストランスポーターサブタイプGLUT12については、細胞生物学的アプローチによる機能解析は行われていたが、精製タンパク質を用いた機能解析は行われておらず、そのグルコース輸送活性の性質は明らかにされていなかった。松尾氏は大腸菌での多量発現系を用いてグルコーストランスポーターGLUT12のリコンビナントタンパク質を精製し、そのグルコース輸送活性を解析した。その結果、GLUT12が同じサブタイプのグルコーストランスポーターGLUT1と同等のグルコース輸送活性を示すことを見出した。さらに、GLUT12の生体内における発現部位を解析し、GLUT12がGLUT1とは異なり脳下垂体等に発現することを見出した。以上の研究成果は、グルコーストランスポーターGLUT12に関する生化学的、細胞生物学的知見を新たに得たものであり、その新規性と重要性から博士に値すると判断する。