



Title	Cloning and Functional Expression of a Brain Peptide/Histidine Transporter
Author(s)	山下, 俊英
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40909">https://hdl.handle.net/11094/40909</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	やま した とし ひで 英 山 下 俊 英
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 3 2 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 5 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Cloning and Functional Expression of a Brain Peptide/Histidine Transporter (脳特異的ペプチド/ヒスチジントランスポーターのクローニングお よび機能解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 彌 (副査) 教 授 早 川 徹 教 授 高 井 義 美

## 論 文 内 容 の 要 旨

### (目的)

ペプチドトランスポーターは哺乳類においては腸管、腎臓で報告されている。これらはそれぞれ、栄養の吸収、再吸収に関与しているとされている。一方神経系においてペプチドは、神経伝達、細胞代謝、体積の維持など特に重要な働きを担っているが、ペプチドの脳細胞への取り込み機構については不明な部分が多い。この解明のため、神経系に発現している新規ペプチドトランスポーターを探索した。

### (方法ならびに成績)

ラット脳ライブラリーより新規遺伝子をスクリーニングにより単離した。この遺伝子は572のアミノ酸から成り、12回膜貫通構造、4箇所のNグリコシレーションサイトを有する、独特の膜型トランスポーターの特徴をもっている。アミノ酸配列上はペプチドトランスポーターのスーパーファミリーに属するが、哺乳類の腸ならびに腎臓で発見されたペプチドトランスポーターとは相同性が低く、植物のヒスチジントランスポーターに比較的相同性がある。

これらの情報をもとに、この遺伝子の cRNA をアフリカツメガエルの卵母細胞に注入して、機能解析を行うと、ヒスチジン及びカルノシンの取り込みがみられた。ヒスチジンに対する Km 値は17  $\mu$ M で、高親和性であった。また pH を下げると取り込みが増すことより、プロトン依存性のトランスポーターであることがわかった。Na<sup>(+)</sup> には非依存性、温度依存性であった。また阻害実験により、広く di-peptide および tri-peptide が基質となるが、ヒスチジン以外のアミノ酸や長鎖ペプチドは基質とならなかった。以上よりこの遺伝子はペプチド/ヒスチジントランスポーターであることが証明された。

ノーザンブロットでは2.9 Kb 付近に単一バンドを認め、脳、網膜にこの遺伝子発現が豊富にみられた。他の臓器での発現は低く、腎臓、腸管にはみられなかった。脳での遺伝子発現は海馬、小脳などに特に強く、大脳皮質、脳幹など全般に広く認められた。細胞レベルでは神経細胞ならびにグリア細胞にシグナルがみられた。網膜でも全層にわたって発現を認めた。

### (総括)

脳特異的ペプチド/ヒスチジントランスポーターはその機能解析よりいくつかの推察が可能である。ペプチダーゼ等により断片化した短い神経ペプチドを取り込み、シナプス間隙からの除去が達成されるのではないかということ。またニューロモデュレーターであるいくつかの短鎖ペプチドを取り込む可能性があること。最近血中小ペプチドが脳に多く取り込まれていることが示され、その意義については不明であるが、細胞機能維持に必要なのであろうと考えられていること。神経系に効果を示すペプチド薬剤を開発する上で、トランスポーターの親和性を高めるような修飾を加えるなど、多大な寄与が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

哺乳類の神経系に発現する新規遺伝子を世界に先駆けて発見した。この遺伝子は、独特の膜型トランスポーターの構造を有し、機能解析の結果、ヒスチジンおよびペプチドの取り込みがみられ、高親和性、プロトン依存性のペプチド/ヒスチジントランスポーターであることをつきとめた。この遺伝子発現は脳、網膜特異的にみられ、脳での遺伝子発現は海馬、小脳などに特に強く、網膜においては全層にわたって発現を認めた。また浸透圧応答性に遺伝子発現が変化することより、ペプチドとオスモライトとの関連についても明らかにした。このトランスポーターは、神経ペプチドを取り込む可能性があり、細胞機能維持にも必須であろうと考えられる。また神経系に効果を示すペプチド薬剤を開発する上でも多大な寄与が期待される。神経系のまったく新しい遺伝子単離のみならず、その機能ならびに意義まで踏み込んで解明した一連の研究成果は、学位の授与に値すると思われる。