

Title	マウス液胞型H ⁺ 輸送性ATPase Gサブユニットの多様性の研究
Author(s)	吉水, 孝緒
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43580
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	よし 吉 水 孝 緒
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 6 7 7 8 号
学位授与年月日	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	マウス液胞型H ⁺ 輸送性 ATPase Gサブユニットの多様性の研究
論文審査委員	(主査) 教授 二井 将光 (副査) 教授 金澤 浩 教授 永井 克也 助教授 和田 洋

論 文 内 容 の 要 旨

液胞型H⁺輸送性 ATPase (V-ATPase) は、内膜系オルガネラの膜に存在し、ATP 加水分解のエネルギーを駆動力としてH⁺を輸送し、内腔を酸性に保っている。V-ATPase はオルガネラの膜だけでなく、分化した細胞においては形質膜にも存在し、H⁺を細胞外に排出して細胞外環境を酸性に保つ役割を果たしている。様々なオルガネラに特有の酸性環境や、細胞外の酸性 pH の形成には、V-ATPase の多様性が、活性と局在の両面から寄与している可能性が高い。この多様性を担っているのがサブユニット・イソフォームであると考え、私は研究を始めた。

本研究では、V-ATPase を構成する G サブユニットに着目し、3 種類のイソフォームが存在することを明らかにした。さらに細胞とオルガネラにおける 3 種のイソフォームの発現様式について詳細に明らかにした。同時に、各イソフォームと他のサブユニット・イソフォームとの相互作用を明らかにすることを目指した。

マウス V-ATPase の c サブユニットは 1 遺伝子によってコードされており、イソフォームが存在しないことが明らかにされている。このサブユニットに対する解析を通じて、V-ATPase が脳および腎臓に極めて多く発現していることを示した。さらに G サブユニット (のちに G1 イソフォームとする) の発現量について検討を行い、脳および腎臓での発現レベルが c サブユニットと対応しないことから、G サブユニットにイソフォームが存在することを推定した。

酵母 G サブユニットの Vma10p のアミノ酸配列をもとに EST データベースの検索を行い、マウスの G サブユニットに 3 種類のイソフォームが存在することを明らかにした。これらイソフォームは、広範な組織に発現するもの、脳特異的に発現するもの、そして腎臓特異的に発現するものであった。それぞれを、G1, G2, G3 イソフォームとして同定した。

広範な組織に存在する G1 と、脳特異的に存在する G2 について、脳での発現様式の違いを詳細に検討した。脳においては、G1 はグリア細胞 (アストロサイト、オリゴデンドロサイト) とニューロンの細胞体と樹状突起に発現し、一方の G2 はニューロンだけに存在することを明らかにした。しかも G2 はニューロンの細胞体や樹状突起に加え、軸索内のシナプス小胞に局在することを見出した。同時に、複数のイソフォームが存在することが明らかにされていた a サブユニットのニューロンに於ける発現様式を調べた。a1 および a2 イソフォームがニューロンの細胞体、樹状突起に発現していたのに対して、a3 はシナプス小胞にも局在していた。これらの結果から、シナプス小胞の酸性化には、G サブユニットとして G2、a サブユニットとして a3 を持つ V-ATPase がその役割を担っていると結論した。

腎臓における α サブユニットの発現様式については、 $\alpha 1$ が遠位尿細管に、 $\alpha 2$ が糸球体および血管系に、 $\alpha 3$ が近位尿細管に、そして腎臓特異的に発現する $\alpha 4$ は皮質集合管に強く発現することが明らかにされている。本研究では、 G イソフォームの腎臓における発現について検討した。広範な組織に発現する $G1$ は遠位尿細管、近位尿細管、そして集合管に、腎臓特異的に発現する $G3$ は皮質集合管においてのみ強く発現していた。したがって、遠位尿細管では $\alpha 1$ と $G1$ を、近位尿細管では $\alpha 3$ と $G1$ をサブユニットに持つ V-ATPase が、それぞれ H^+ 輸送を担っていると考えられる。一方、皮質集合管に存在する V-ATPase は、 $\alpha 4$ と $G1$ もしくは $G3$ を構成サブユニットとして持っていた。

以上の結果より、私が同定した 3 種のイソフォームのうち、 $G1$ は広範な組織で発現し、細胞の基本的な機能維持に関与していると考えられた。一方、 $G2$ はシナプス小胞の酸性化に、また $G3$ は腎臓皮質集合管における H^+ 輸送に重要な役割を果たしている。このように様々なイソフォームから構成される V-ATPase が、生体内の多様な酸性環境を形成していることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

液胞型 H^+ 輸送性 ATPase (V-ATPase) は、内膜系オルガネラ膜や分化した細胞の形質膜に存在し、酸性環境を形成している。申請者は、生物における多様な酸性環境の形成には、V-ATPase のサブユニット・イソフォームが関わっている、という観点から研究を進めた。マウス V-ATPase を構成する G サブユニットに着目し、3 種類のイソフォーム ($G1$, $G2$, $G3$) が存在することを明らかにした。 $G1$ は広範な組織で発現し、細胞の基本的な機能維持に関与していると考えられる。一方、脳特異的に発現する $G2$ はシナプス小胞の酸性化に、また腎臓特異的な $G3$ は集合管において機能することを示唆した。このように様々なイソフォームから構成される V-ATPase が、多様な酸性環境を形成していることが明らかになった。これらの成果は、博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。