

氏名	澤田 啓介
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 4108 号
学位授与の日付	平成 22 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 1 項該当)
学位論文の題目	小胞型ヌクレオチドトランスポーターの同定とその性質
論文審査委員	教授 森山 芳則 准教授 田中 智之 准教授 中尾 浩史

学位論文内容の要旨

ATP はエネルギー通貨としてだけでなく、神経伝達物質として機能している。ATP やその代謝物を伝達物質として用いるプリン作動性化学伝達は神経-グリア相互作用、神経因性疼痛、血小板凝集といった様々な生理作用や病理作用に関与している。このような作用を生じるためには、細胞から ATP が遊離されなければならない。ATP の遊離機構に開口放出がある。ATP が開口放出されるためには、分泌小胞中に ATP が濃縮される必要がある。実際、ある種の神経のシナプス小胞や副腎のクロマフィン顆粒などに濃縮されていることが知られており、ATP の濃縮において能動輸送体が関与していると考えられていた。これまでに ATP をはじめとするヌクレオチドは膜電位を駆動力として輸送されること、またその輸送は塩素イオン感受性を示すことが明らかにされていた。しかし、分子実体の同定までは至っていなかった。

当研究室では SLC17 ファミリーのメンバーはいずれも膜電位を駆動力とするアニオン輸送活性を持ち、またその輸送は塩素イオン感受性を示すことを明らかにした。これはこれまで報告されている ATP 輸送の特性と一致する。そこで SLC17 ファミリーに属する VGLUT2 の配列をもとにホモロジー検索を行なったところ、新たな遺伝子を見だし、SLC17A9 と名付けた。これが小胞型ヌクレオチドトランスポーターではないかと考え、検証した。

SLC17A9 は様々な組織に発現していたが、特に脳、副腎で発現量が多かった。副腎での局在を調べてみると、クロマフィン顆粒に発現していることがわかった。次に精製 SLC17A9 タンパク質をリポソームに再構成するという新たな活性測定系を構築し、機能解析した。SLC17A9 タンパク質は膜電位を駆動力として ATP を含むヌクレオチドを輸送した。また ATP に対する親和性は以前報告にあった値と同程度であった。ATP 輸送は塩素イオン感受性を示すなど、ATP 輸送の特性はクロマフィン顆粒膜を用いた実験で観察された特性と一致する。さらに RNAi により SLC17A9 タンパク質が分泌小胞への ATP の濃縮と引き続き起こる開口放出に関与していることを確かめた。

以上の結果から SLC17A9 タンパク質は分泌小胞へのヌクレオチドの濃縮を担う小胞型ヌクレオチドトランスポーター(vesicular nucleotide transporter, VNUT)であると結論づけた。

CNS における ATP の遊離機構についてはあまり研究がなされていなかった。我々が発見した VNUT は ATP の遊離機構が開口放出であることを示す分子マーカーになる。VNUT の局在、性質を明らかにすることで、神経での ATP の遊離機構の解明を試みた。

ATP の遊離は VNUT を介していること、Ca²⁺依存性、破傷風毒素に感受性を示すことを明らかにした。つまり、神経において VNUT により分泌顆粒に濃縮された ATP が開口放出により遊離される。

論文審査結果の要旨

ATPは細胞のエネルギー通貨としてだけでなく、細胞間情報伝達物質としての側面もある。この情報伝達系はプリン性化学伝達とよばれており、痛みなどの感覚入力その他、免疫、血液機能など非常に公汎な生理機能を制御している。このプリン性化学伝達系の中で、唯一、分子基盤が全く不明のタンパク質があった。すなわち、分泌小胞にATPを蓄積する小胞型ヌクレオチドトランスポーターである。澤田は、博士論文の中で、プリン性化学伝達が見いだされてから40年以上に渡って、探し求められていたこの分子を同定し、小胞型ヌクレオチドトランスポーター(VNUT)と命名した。VNUTはSLC17ファミリーに属する9番目の因子である。澤田はその遺伝子構造、cDNAクローニングはもとより、タンパクの大量発現系を構築し、タンパクを精製し、リポソームに組み込み、ATP輸送を再現した。さらに、この輸送の詳細な性質を解明した。澤田は、この研究にとどまらず、さらにこのトランスポーターが二価金属カチオンを輸送することなどを見いだした。この発見により、分泌小胞内にATPが蓄積する分子機構が世界で初めて決定された。成果の一部は澤田は筆頭著者で米国科学アカデミー紀要に掲載され、コメントリーでも解説された。以上の結果を記載した本論文は、従って、博士論文として誠にふさわしいものである。