

カルニチン輸送担体 OCTN2の 新規調節因子(Cartregulin)の構造と機能

学位論文内容の要旨

カルニチンは、長鎖脂肪酸をミトコンドリア内膜に通過させる際に必須の担体であり、脂肪酸代謝に重要な因子である。またその誘導体であるアセチルカルニチンは、神経伝達物質の産生に関与し、アルツハイマー型痴呆などの神経疾患の治療に使われる可能性がある。現在、カルニチン及びアセチルカルニチンの輸送担体として知られているものは、OCTN2 (有機陽イオン輸送担体) があり、その脳での発現は非常に低いため、我々は、脳特異的な輸送担体の単離を試みた。OCTN 群に保存されている共通配列 0.2kb をプローブとして、ラット脳 cDNA ライブラリーをブランクハイブリダイゼーション法にてスクリーニングした。OCTN2 に相同性を有する cDNA が単離され、Cartregulin と命名した。Cartregulin cDNA は、2926bp の塩基からなり、146 個のアミノ酸をコードしている。Cartregulin 蛋白は、OCTN 群共通の一回膜貫通領域を有している。Cartregulin mRNA は、ラットの脳だけでなく、腎臓や精巣上体をはじめ多くの臓器に発現している。また、Cartregulin 蛋白は、CHO 細胞や COS7 細胞において、小胞体に局在していた。Cartregulin 自体では、COS7 細胞においてカルニチン及びアセチルカルニチンの輸送活性は有しないが、OCTN2 と共発現することで、OCTN2 の輸送活性を約 2 倍に増加させる。この OCTN2 のカルニチン及びアセチルカルニチンの輸送活性増強は、OCTN2 mRNA が増

加することで OCTN2 蛋白の増加によるものであることが判明した。mRNA の増加のメカニズムを調べるためにアフリカツメガエルの卵母細胞を使用し、直接 cRNA を注入することで転写の要素を除外した。Cartregulin と OCTN2 を共発現した卵母細胞では、アセチルカルニチンの輸送活性が増強し、OCTN2 アナログである OCTN1 と共発現した OCTN2 では変化がなかった。以上のことから、Cartregulin は、OCTN2 mRNA を安定化させることで OCTN2 の発現を増加させ、その結果 OCTN2 の輸送活性の増強すると考えられる。このことから Cartregulin は、OCTN2 の新規の増強因子であると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 筒 井 裕 之

副 査 教 授 三 輪 聡 一

副 査 教 授 川 口 秀 明

学 位 論 文 題 名

カルニチン輸送担体 OCTN2の 新規調節因子 (Cartregulin) の構造と機能

カルニチンは、長鎖脂肪酸をミトコンドリア内膜に通過させる際に必須の担体であり、脂肪酸代謝に重要な因子である。またその誘導體であるアセチルカルニチンは、神経伝達物質の産生に関与し、アルツハイマー型痴呆などの神経疾患の治療に使われる可能性がある。現在、カルニチン及びアセチルカルニチンの輸送担体として知られているものは、OCTN2 (有機陽イオン輸送担体) があり、その脳での発現は非常に低いため、我々は、脳特異的な輸送担体の単離を試みた。OCTN 群に保存されている共通配列 0.2kb をプローブとして、ラット脳 cDNA ライブラリーをブランクハイブリダイゼーション法にてスクリーニングした。OCTN2 に相同性を有する cDNA が単離され、Cartregulin と命名した。Cartregulin cDNA は、2926bp の塩基からなり、146 個のアミノ酸をコードしている。Cartregulin 蛋白は、OCTN 群共通の一回膜貫通領域を有している。Cartregulin mRNA は、ラットの脳だけでなく、腎臓や精巣上体をはじめ多くの臓器に発現している。また、Cartregulin 蛋白は、CHO 細胞や COS7 細胞において、小胞体に局在していた。Cartregulin 自体では、COS7 細胞においてカルニチン及びアセチルカルニチンの輸送活性は有しないが、OCTN2 と共発現することで、OCTN2 の輸送活性を約 2 倍に増加させる。この OCTN2 のカルニチン及びアセチルカルニチンの輸送活性増強は、OCTN2 mRNA が増加することで OCTN2 蛋白の増加によるものであることが判明した。mRNA の増加のメカニズムを調べるためにアフリカツメガエルの卵母細胞を使用し、直接 cRNA を注入することで転写の要素を除外した。Cartregulin と OCTN2 を共発現した卵母細胞では、アセチルカルニチンの輸送活性が増強し、OCTN2 アナログである OCTN1 と共発現した OCTN2 では変化がなかった。以上のことから、Cartregulin は、OCTN2 mRNA を安定化させることで OCTN2 の発現を増加させ、その結果 OCTN2 の輸送活性の増強すると考えられる。このことから Cartregulin は、OCTN2 の新規増強因子であると考えられる。

口頭発表に際し、主査の筒井教授から Cartregulin は、ミトコンドリアリッチな臓器にも同じものが存在するのか。色々な病態で Cartregulin が変化するのかなどの質問がなされた。次いで副査の川口教授からカルニチンは昔心保護薬として使用されたがあまり効果なく、何故今カルニチンに関して研究しようと考えたのか動機を知りたい。OCTN2 の約 1/3 のもので相同性が高いものなら、OCTN2 が切断されたものの可能性は否定できるのか。Cartregulin は、OCTN2 mRNA の安定化にて作用するとのことだが、蛋白—蛋白による相互作用はないのか。などの質問がなされた。次いで副査の三輪教授から川口先生の質問に対するコメント及び、心臓への臨床応用の形で Cartregulin がどのような効果が期待されるかなどの質問がなされた。いずれの質問に対しても、申請者は研究結果に基づいて、あるいは文献的知識により、概ね適切な回答を行った。

この論文は、新規の分子を同定し、その構造および機能を明らかにした点を評価され、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。