

氏 名 ^{やま} 山 ^だ 田 ^{ゆういちろう} 祐一郎
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学位記番号 医 博 第 1594 号
 学位授与の日付 平 成 6 年 9 月 24 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
 研究科・専攻 医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
 学位論文題目 Cloning of a somatostatin receptor family
 (ソマトスタチン受容体ファミリーのクローニング)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 中 尾 一 和 教 授 成 宮 周 教 授 森 徹

論 文 内 容 の 要 旨

ソマトスタチンはアミノ酸 14 個からなるホルモンで、体内各所で産生され成長ホルモンやインスリンなど各種ホルモンの分泌抑制や細胞の増殖抑制など多彩な生理活性を有している。ソマトスタチンが細胞膜表面に存在する特異的受容体に結合したのち、G 蛋白を介し、その情報は細胞内へと伝達される。したがって 1 種のリガンドに対して複数の受容体が存在することによって、ソマトスタチンが多く異なる作用を発揮することが想定されていた。そこで、1) ヒトソマトスタチン受容体ファミリーをクローニングし、その構造を明らかにするとともに、2) ソマトスタチンやソマトスタチン誘導体に対する結合特性を明らかにし、3) ブロッキング法により組織特異的発現について検討を加えた。

1) ヒトソマトスタチン受容体ファミリーのクローニング

ヒトおよびマウスのゲノム DNA を制限酵素 EcoRI を用いて切断し、1%アガロースゲル電気泳動に供した。ヒトソマトスタチン受容体第 1 番目のサブタイプ (SSTR1) 及び第 2 番目のサブタイプ (SSTR 2) をプローブとし、DNA ブロッキングを行ったところ、予想される以外にもいくつかシグナルが検出され、ソマトスタチン受容体はさらに大きな遺伝子ファミリーを形成することが示唆された。そこでヒトゲノムライブラリーを SSTR 1 と SSTR 2 の遺伝子断片をプローブとして検索した。その結果、新たに 3 種類の制限酵素地図の異なる陽性クローン (SSTR 3, SSTR 4, SSTR 5) を得た。塩基配列を決定したところそれぞれ翻訳領域は、1254, 1164, 1092 塩基対からなり、418, 388, 364 個のアミノ酸からなる。疎水性の解析より、いずれのサブタイプも N 端は細胞外にあり、7 回膜を貫通し、C 端が細胞内に存在するという典型的な G 蛋白共役受容体の構造をしているものと考えられた。また N 端には 1~2 個の糖鎖付着部位があり、第 1 と第 2 の細胞外ループはシステイン残基間で SS 結合していることが予想され、また第 3 細胞内ループや C 端には多くのセリン、スレオニン残基を認め、各種のリン酸化酵素により受容体の機能が調節されていることが示唆された。5 種類のソマトスタチン受容体サブタイプのアミノ酸を比較す

ると、42 から 60% の同一性を認め、相同な部位は主として膜貫通領域であり、細胞外にあると予想される N 端部分や細胞内に存在する C 端部分にはほとんど相同性が認められなかった。

2) ソマトスタチンやその誘導体に対する結合特性

内因性のソマトスタチン受容体をほとんど有しない COS 細胞に得られたソマトスタチン受容体クローンを遺伝子導入した。48 時間後に細胞より膜蛋白を調整し、内在性のソマトスタチン-14 (SS-14) とソマトスタチン-28 (SS-28)、およびソマトスタチン誘導体 SMS 201-995 に対する結合を測定した。その結果、SSTR 3 と SSTR 5 は、SS-14 に比し SS-28 に強く結合し、SSTR 4 はほぼ同一の結合を示した。一方、SMS 201-995 に対しては SSTR 3 と SSTR 5 は、弱く結合するが、SSTR 4 はほとんど結合しなかった。

3) ソマトスタチン受容体各サブタイプの組織特異的発現

RNA ブロッキング法でヒト各組織で遺伝子発現を検討すると、SSTR 1 が胃や十二指腸などの消化管に、SSTR 2 が腎臓や大脳で発現するのに対し、SSTR 3 は大脳で発現を認めたが、SSTR 4 と SSTR 5 は正常組織においてはほとんど発現を認めなかった。

論文審査の結果の要旨

ソマトスタチンは体内各所で産生され多彩な生理活性を有するホルモンで、糖代謝の調節などに関与している。そこで、ソマトスタチンの作用機構を解明すべく、ソマトスタチン受容体の構造の決定を試みた。ヒトソマトスタチン受容体は 5 種類のサブタイプ (SSTR 1-5) からなる遺伝子ファミリーを構成し、364 から 418 個のアミノ酸からなり、各サブタイプ間で 42 から 60% の相同性を有していた。また、各サブタイプの結合特性を比較すると SSTR 1 と SSTR 2 は、ソマトスタチン-14 (SS-14) にソマトスタチン-28 (SS-28) より強い親和性を示した。これに対し、SSTR 3 と SSTR 5 は、SS-28 に強く結合し、SSTR 4 は両者にほぼ同一の結合を示した。SSTR 1 が胃や十二指腸などの消化管に、SSTR 2 が腎臓や大脳で発現するのに対し、SSTR 3 は大脳で発現を認めた。しかし SSTR 4 と SSTR 5 は正常組織においてはほとんど発現を認めなかった。

以上の研究はソマトスタチン受容体の構造を解明し、作用機構の理解に寄与するところが大きい。従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 6 年 8 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。