京都大学	博士（医学）	氏　名	谷原　悠子
論文題目	Substrate Specificity of MATE1 and MATE2-K, Human Multidrug and Toxin Extrusions/H^+-Organic Cation Antiporters (ヒト H^+/有機カチオンアンチポータ、hMATE1 及び hMATE2-K の基質認識特異性に関する研究)		

（論文内容の要旨）

腎におけるカチオン性薬物の尿細管分泌には、有機カチオン輸送系が重要な役割を担うことが明らかにされてきた。ヒト近位尿細管上皮細胞の血管側側底膜においては、膜電位依存性有機カチオントランスポータ OCT2（SLC22A2）が、循環血中からの細胞内取り込み過程を媒介することが所属研究室を含めいくつかの研究グループにより実証されてきた。一方、管腔側の刷子縁膜について、所属研究室では H^+との逆輸送を媒介するトランスポータの存在を機能面から明らかにしてきたが、分子実体は長らく不明であった。2005 年、大腸菌において H^+または Na^+と共役してカチオン性薬物の排泄を媒介する NorM に着目し、そのヒトホモログである human multidrug and toxin extrusion 1（hMATE1, SLC47A1）がクローニングされた。また、所属研究室ではヒト腎特異的な hMATE2-K を単離し、hMATE1 と hMATE2-K が H^+/有機カチオンアンチポータの分子実体であることを見出した（参考論文, J Am Soc Nephrol. 17, 2127, 2006）。そこで本研究では、hMATE1 と hMATE2-K の機能特性、特に基質認識特性を中心に詳細な比較検討を行い、以下の新知見を得た。

hMATE1 及び hMATE2-K 安定発現細胞におけるタンパク発現について特異抗体を用いて調べたところ、hMATE1 は 50 kDa、hMATE2-K は 40 kDa に各トランスポータ特異的なバンドが観察され、ヒト腎由来刷子縁膜画分を用いた結果と一致した。次に、hMATE1 または hMATE2-K cDNA を導入した HEK293 細胞を用いて輸送実験を行い、各種化合物の細胞内蓄積量を測定した。その結果、細胞外 pH をアルカリ側に上昇させた場合、または塩化アンモニウム処理による細胞内酸性化といった外向き H^+勾配を負荷した条件下で、テトラエチルアンモニウムやビグアナイド系血糖降下薬メトホルミンをはじめとするカチオン性化合物及び、エストロン硫酸や抗ウイルス薬のアシクロビル、ガンシクロビルなど一部のアニオン性化合物も MATE ファミリーを介して輸送されることが示された。両性イオン型薬物であるアミノβラクタム系抗生物質セファレキシン及びセフラジンは hMATE1 によって特異的に輸送されることが判明した。さらに、対照と比較して有意な輸送が認められた 12 化合物について速度論的解析を行った結果、hMATE1 と hMATE2-K はほぼ同様の基質親和性を示した。これらの結果から、腎近位尿細管上皮細胞の管腔側刷子縁膜に発現する hMATE1 及び hMATE2-K は、血管側側底膜に発現する hOCT2 を介して上皮細胞内に取り込まれたカチオン性化合物などの能動的な尿細管分泌を媒介し、構造的に多様な生体異物の排泄機構として機能することが示唆された。

以上、hMATE1 及び hMATE2-K の基質認識特性について、カチオン性化合物をはじめ一部のアニオン性化合物も基質になること、両性イオン型化合物セファレキシン、セフラジンは hMATE1 特異的な基質であること等を分子的な面から初めて明らかにすることができた。本研究成果は、イオン性薬物の動態特性及び薬物相互作用を予測・解明する上で有用な基礎的情報になりうるものと考える。

（論文審査の結果の要旨）

大腸菌の排出トランスポータ NorM のヒトホモログ human multidrug and toxin extrusion 1（hMATE1, SLC47A1）が 2005 年にクローニングされた。所属研究室ではヒト腎特異的な hMATE2-K を単離し、hMATE1 と hMATE2-K が近位尿細管の刷子縁膜における H^+/有機カチオンアンチポータの分子実体であること、イオン性薬物の尿細管分泌を媒介する解毒機構であることを見出した(参考論文, J Am Soc Nephrol. 17, 2127, 2006)。申請者は、hMATE1 と hMATE2-K の機能特性を明らかにすることを目的として、特に基質認識特性を中心に詳細な比較解析を行った。

特異抗体を用いた結果、安定発現細胞における hMATE1 及び hMATE2-K タンパクはそれぞれ 50 kDa、40 kDa であり、ヒト腎刷子縁膜画分の結果と一致した。次に、hMATE1 または hMATE2－K 発現細胞を用いた輸送実験の結果、外向き H^+勾配を負荷した条件下で、テトラエチルアンモニウムや血糖降下薬メトホルミンなどカチオン性化合物や、エストロン硫酸、アシクロビル、ガンシクロビルなど一部のアニオン性化合物も MATE ファミリーの基質であることが示された。また、両性イオン型薬物であるセファレキシン及びセフラジンは hMATE1 によって特異的に輸送されることが判明した。さらに、12 種の化合物について速度論的解析を行った結果、hMATE1 と hMATE2-K はほぼ同様の基質親和性を示した。これらの結果から、hMATE1 及び hMATE2-K は、上皮細胞内に取り込まれたイオン性化合物の能動的な尿細管分泌を媒介し、構造的に多様な生体異物の排泄機構として機能することが示唆された。

以上の研究は、イオン性薬物の動態特性及び薬物相互作用の分子機構解明に貢献し、薬物動態学の発展に寄与するところが多い。

したがって、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 21 年 2 月 2 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。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降