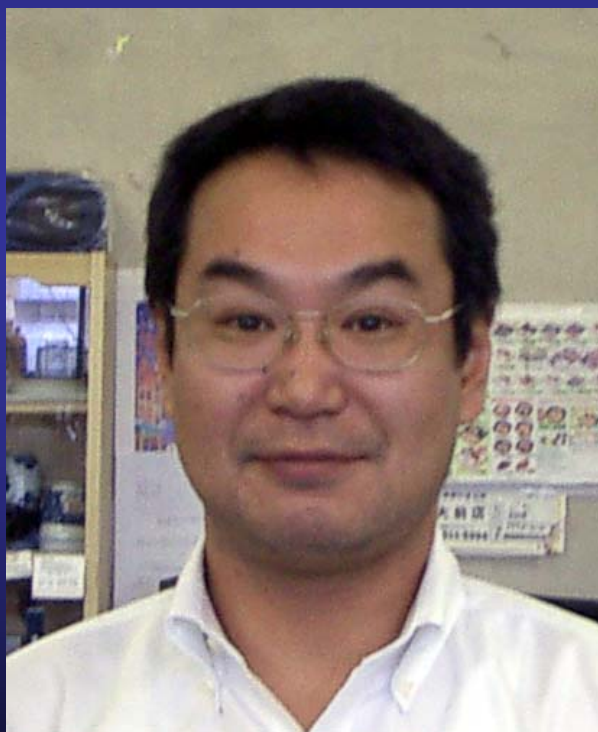


# 中枢神経系に発現する有機イオントランスポーター群の機能解析に関する研究



立命館大学情報理工学部  
藤田卓也

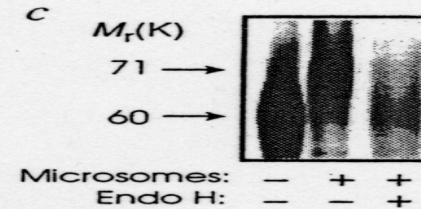
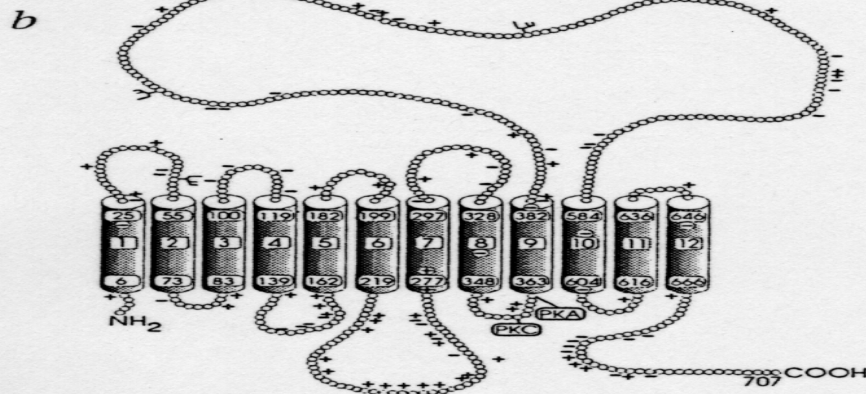
平成19年度日本薬物動態学会奨励賞受賞講演  
(Oct 8, 2007: 仙台国際センター)

*a*

```

MGMSKSLSCFGYPLSIFFFIVVNEFCERFSYYGMRALLILYFRNFIGWDDNLSSTVIYHTFV
      20          40          60
1
ALCYLTPILGALIADAWLGKFKTIVWLSIVYTIGQAVTSLSSVNELTDNNHDGTPDLSLPV
      80          100         120
2
HVAVCMIGLLLLIALGTGGIKPCVSAFGGDQFEEGQEKQRNRFFSIFYLAINAGSLLSTII
      140         160         180
3
4
TPMVRVQOCGIHVQACYPALFGIPAILMAVSLIVFIIGSGMYKKFKPQGNILSKVVKCI
      200         220         240
5
6
CFAIKNRFRHRSKQFPKRAHWLDWAKEKYDERLIAQIKMVTRVLFVLYIPLPMFWALFDQQ
      260         280         300
7
GSRWTLQATTMSGRIGILEIQPDQMOTVNTILIIILVPIMDAVVYPLIAKCGLNFTSLKK
      320         340         360
8
9
MIGMFLASMAFVAAAILQVEIDKTLPVFPKANEVQIKVLNVGSENMIISLPGQTVTLNQ
      380         400         420
10
11
MSQTNEFMTFNEDTLTSLNITSGSQVTMITPSLEAGQRHTLLVWAPNNYRVVNDGLTQKS
      440         460         480
12
DKGENGIRFVNTYSQPINVTMSGKVYEHIASYNASEYQFFFTSGVKGFTVSSAGISEQCRR
      500         520         540
DFESPYLEFGSAYTYLITSQATGCPQVTEFEDI PPNTMNAWQIPQYFLITSGEVVSIT
      560         580         600
10
11
GLEFSYSQAPSNMKSVLQAGWLLTVAVGNIIVLIVAGAQINKQWAEYILFAALLLVVCV
      620         640         660
12
IFAIMARFYTYVNP AEIEAQFEDEKKNPEKNDLYPSLAPVVSQTQM
      680         700         707

```



## ウサギ PEPT1 のアミノ酸配列と推定一次構造

Fei, et al., *Nature* 368, 563 (1994)

# トランスポーター研究の世界へ (1996 ~)

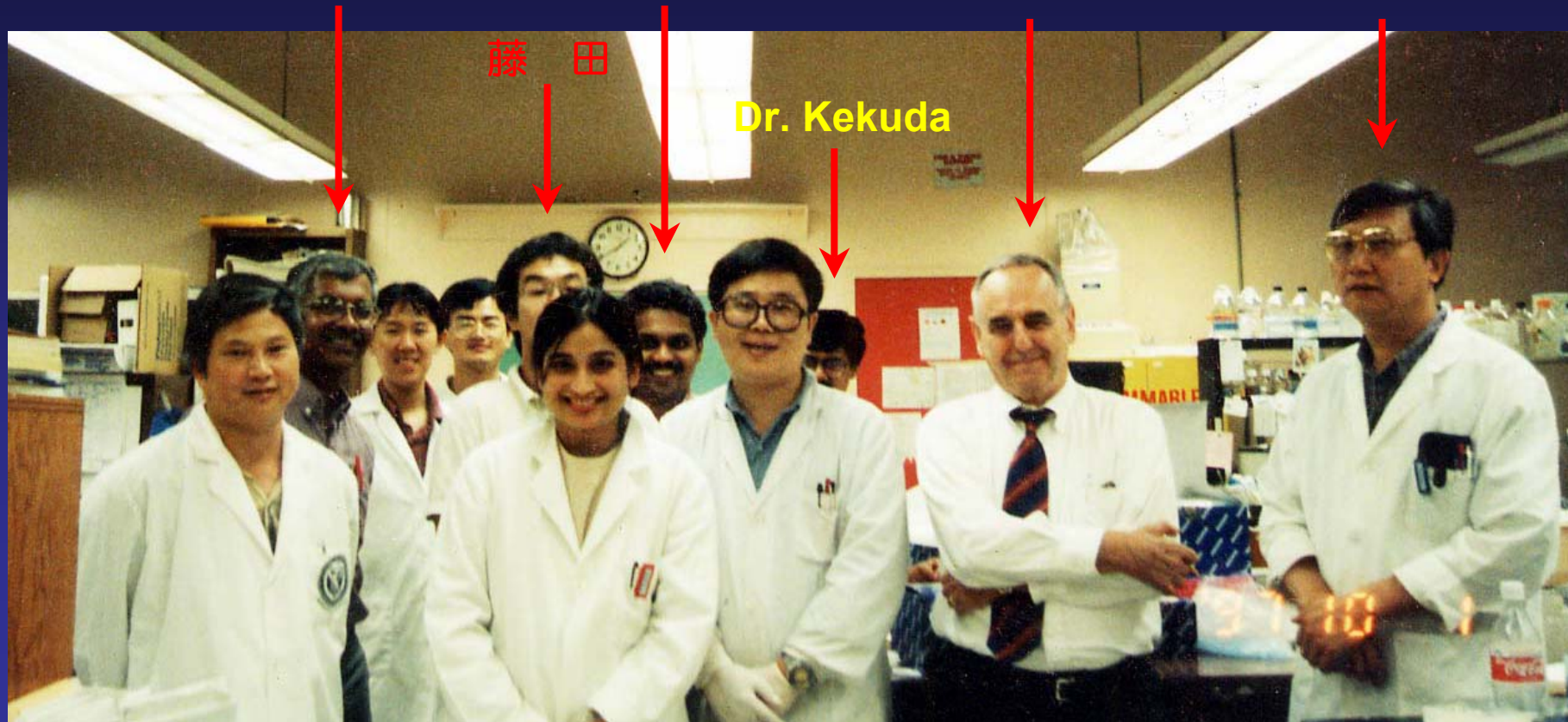
ジョージア医科大学生化学・分子生物学研究室への留学

Prof. Ganapathy

Prof. Prasad

Prof. Leibach

Dr. Fei

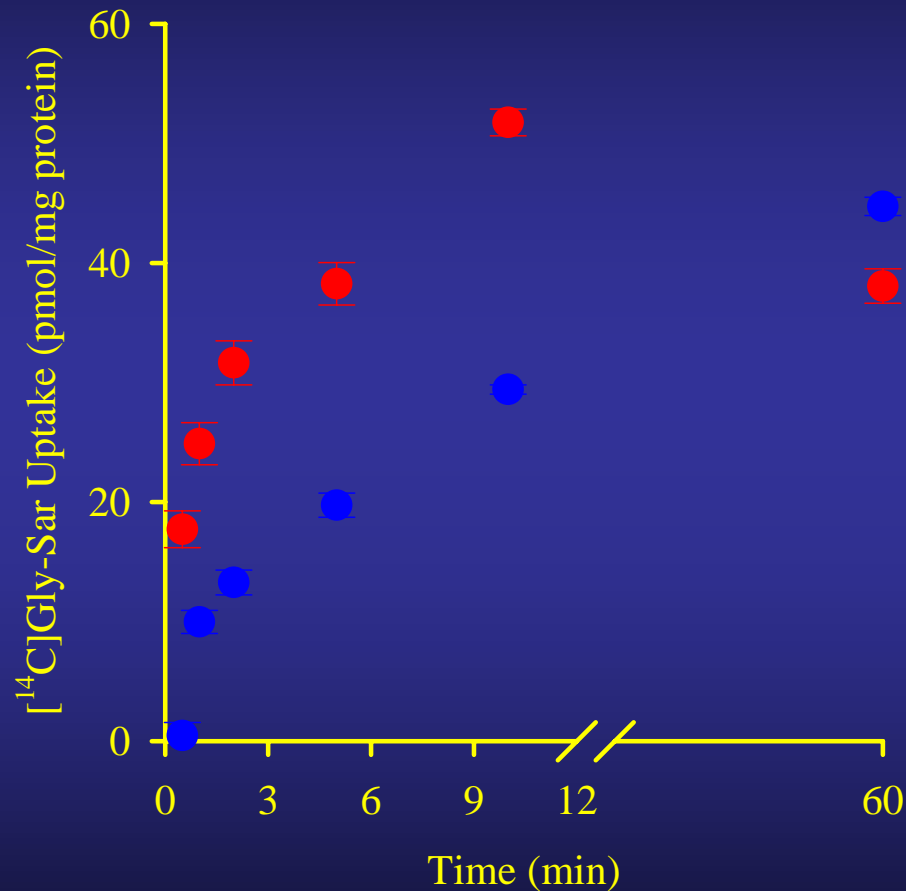


平成19年度日本薬物動態学会奨励賞受賞講演  
(Oct 8, 2007: 仙台国際センター)

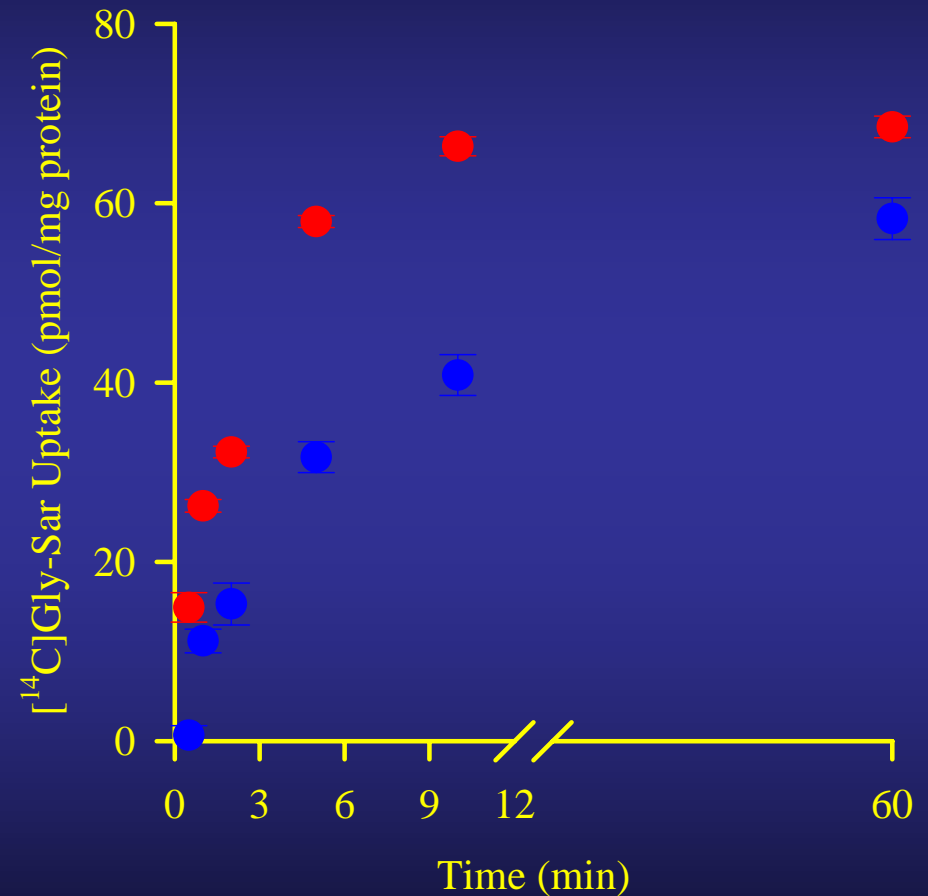
# ラット脳シナプトソームによる $[^{14}\text{C}]\text{Gly-Sar}$ 取り込みの時間推移

(●)  $\text{pH}_{\text{in}} = 7.5, \text{pH}_{\text{out}} = 6.0$ ; (●)  $\text{pH}_{\text{in}} = 7.5; \text{pH}_{\text{out}} = 7.5$

(A) 大脳皮質



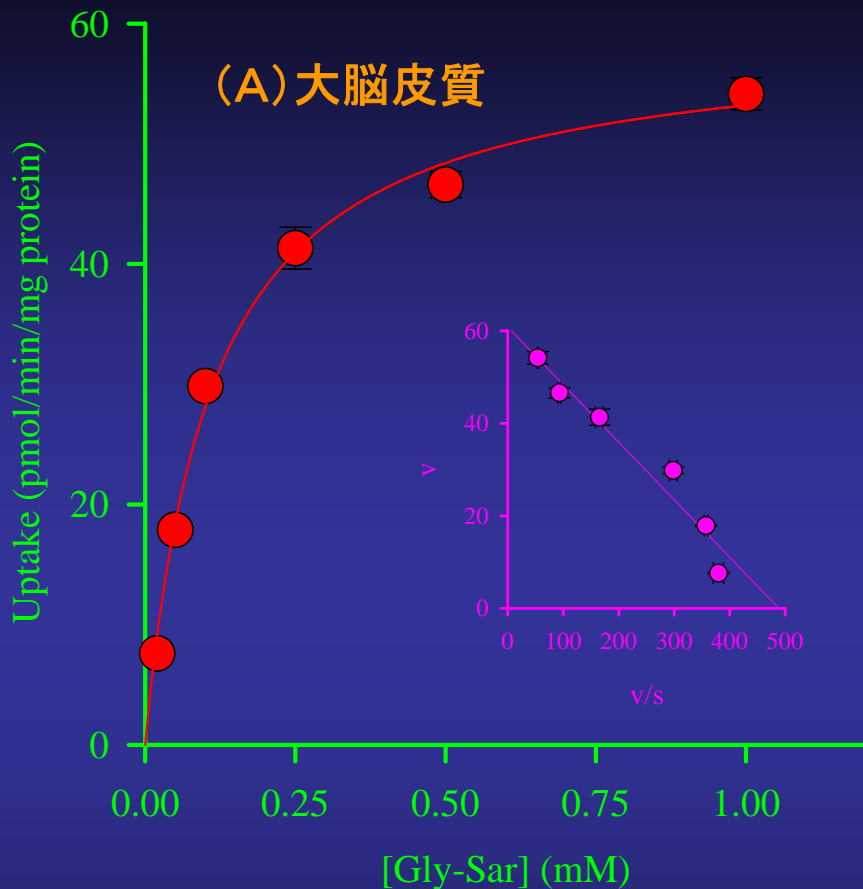
(B) 小脳



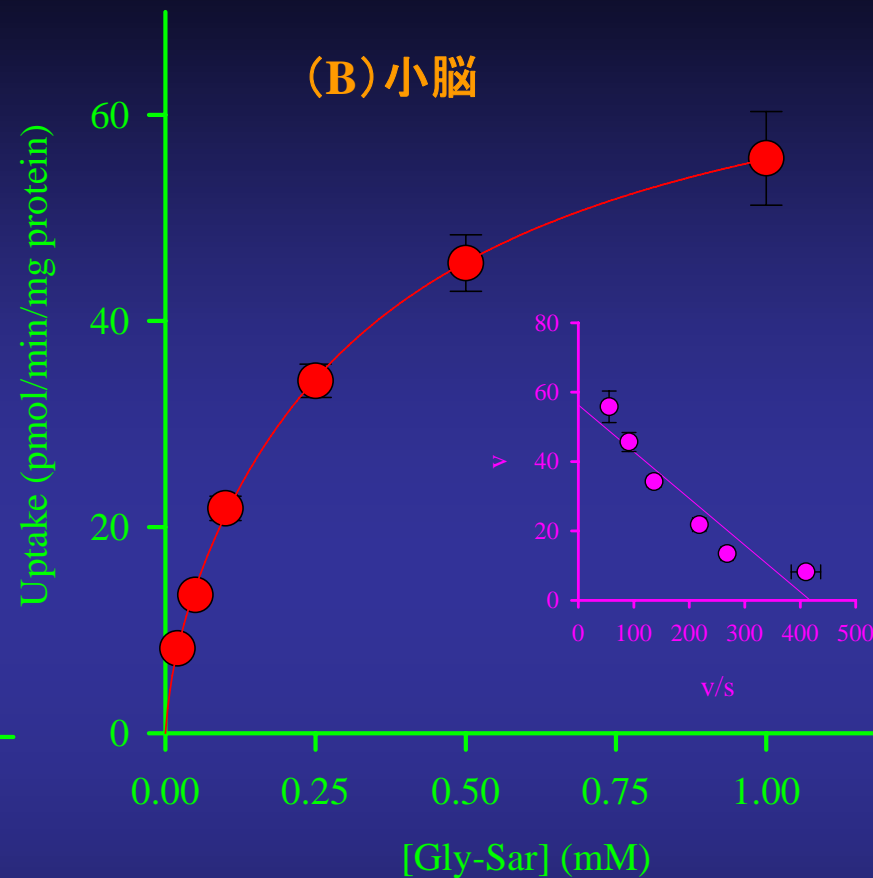
Fujita et al., *Neurosci. Lett.* **271**, 117 (1999)  
Fujita et al., *Brain Res.* **997**, 52 (2004)

平成19年度日本薬物動態学会奨励賞受賞講演  
(Oct 8, 2007: 仙台国際センター)

# [<sup>14</sup>C]Gly-Sar のラット脳シナプトソームへの取り込みにおける濃度依存性



$K_m = 0.11 \pm 0.01$  (mM)  
 $V_{max} = 59.1 \pm 1.6$  (pmol/min/mg protein)

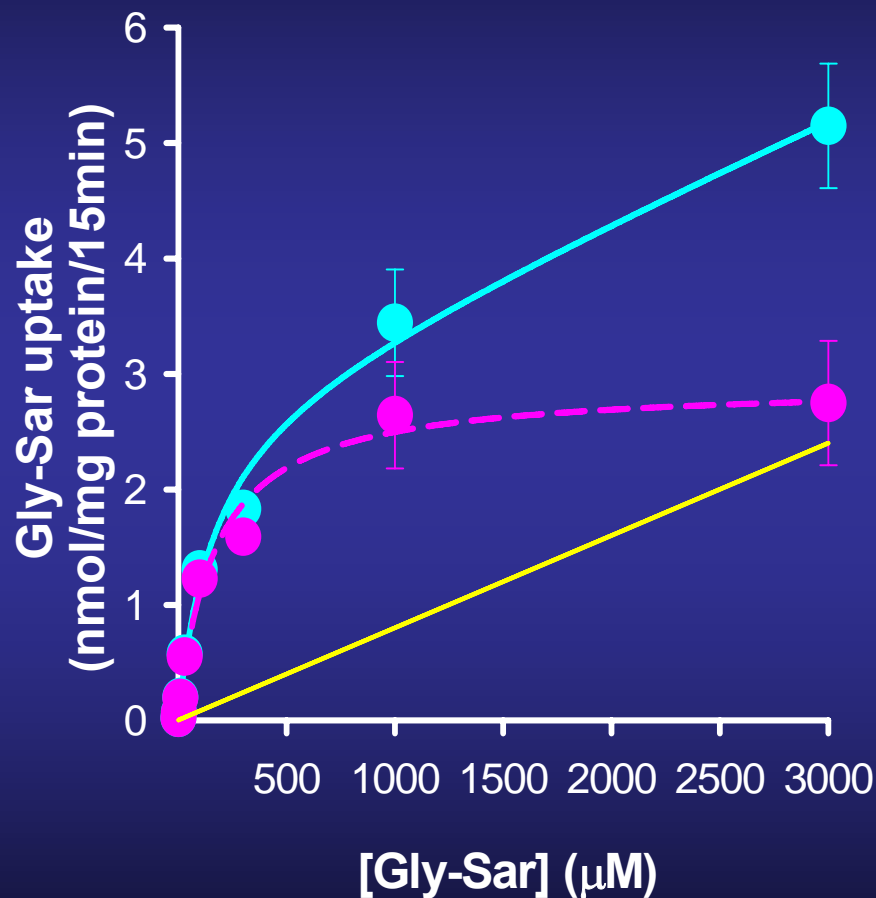


$K_m = 0.13 \pm 0.02$  (mM)  
 $V_{max} = 56.3 \pm 2.6$  (pmol/min/mg protein)

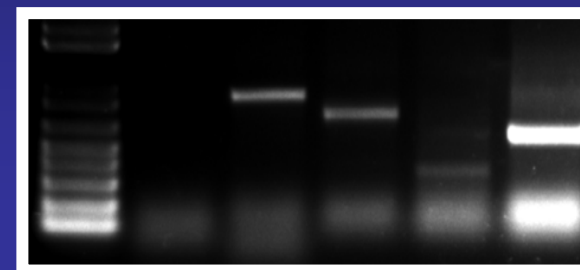
Fujita et al., *Neurosci. Lett.* **271**, 117 (1999)  
Fujita et al., *Brain Res.* **997**, 52 (2004)

平成19年度日本薬物動態学会奨励賞受賞講演  
(Oct 8, 2007: 仙台国際センター)

# マウス大脳皮質アストロサイトにおける Gly-Sar 取り込みの濃度依存性と PEPT mRNA 発現



## RT-PCR の結果

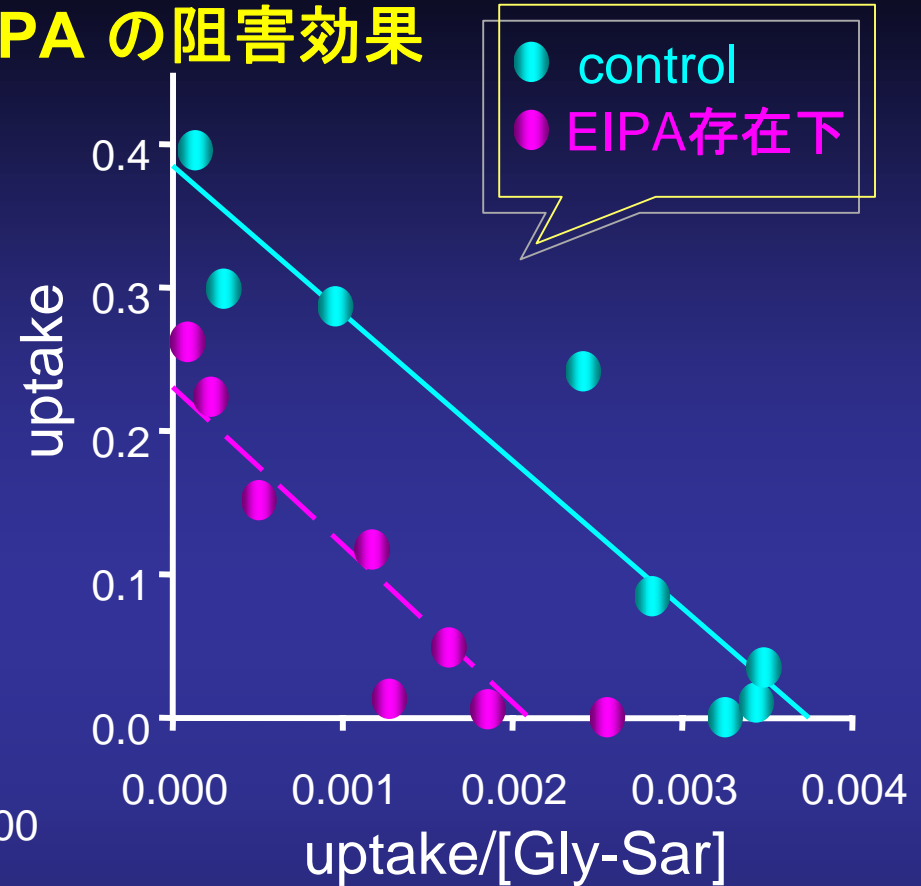
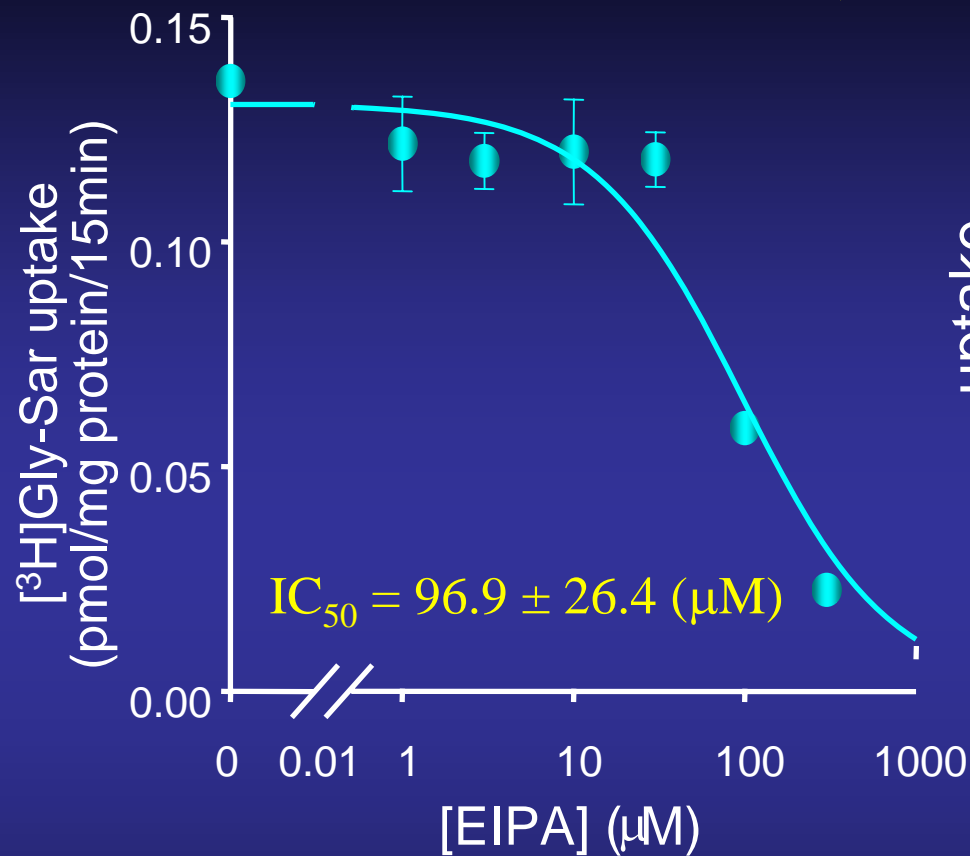


$$K_t = 154.40 \pm 52.41 (\mu\text{M})$$

$$V_{\text{max}} = 2.81 \pm 0.41 (\text{nmol/mg-p/15 min})$$

$$K_d = 0.8 \pm 0.01 (\mu\text{L/mg protein/15 min})$$

# マウス大脳皮質アストロサイトにおける Gly-Sar 取り込みに対する NHE阻害剤、EIPA の阻害効果



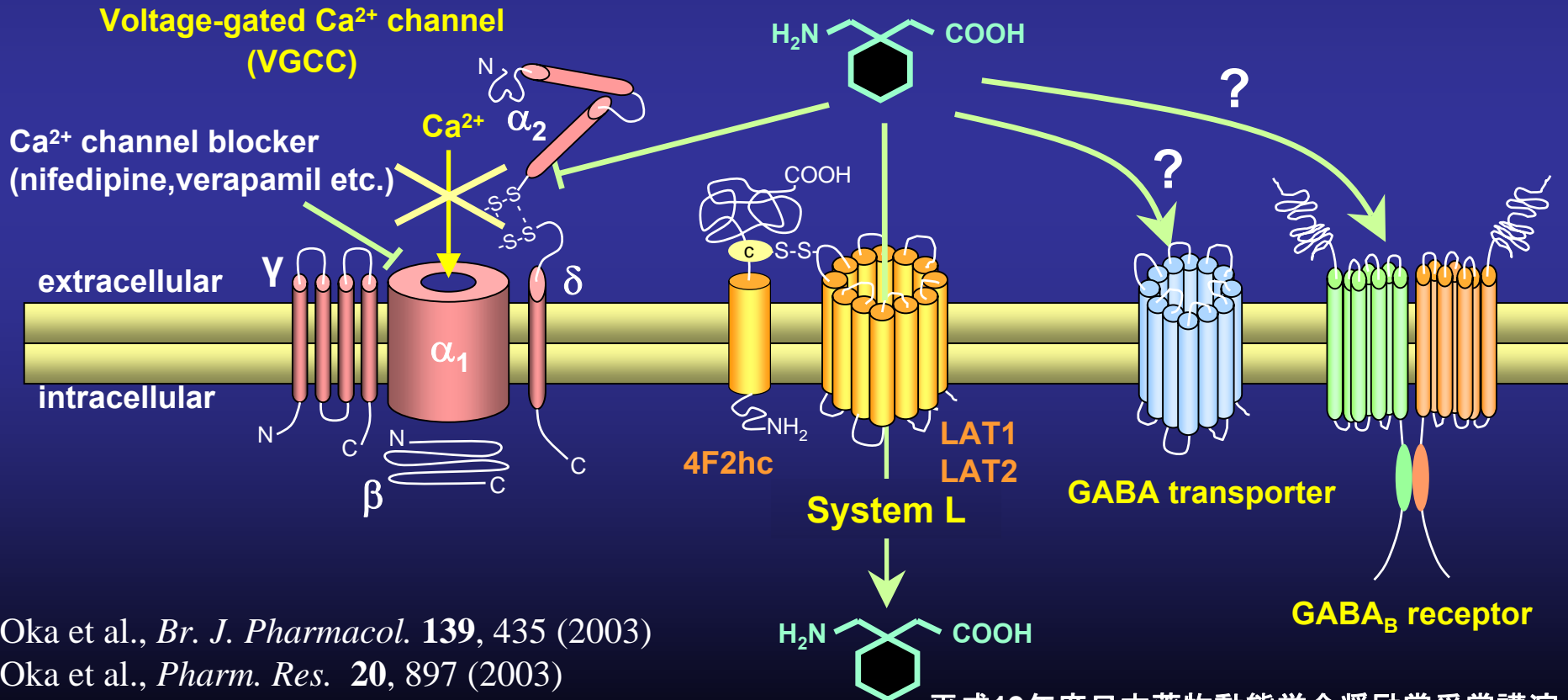
pH<sub>out</sub> = 7.5; Na<sup>+</sup> containing buffer

	control	EIPA 存在下
$K_t$ ( $\mu M$ )	102	109
$V_{max}$ (nmol/mg-p/15 min)	0.38	0.23

## Gabapentin (Neurontin®)



- ✦ 抗てんかん薬。
- ✦ 神経痛、糖尿病性疼痛、癌性疼痛などに対する鎮痛効果も有する。
- ✦ GABA 作動性薬として開発。
- ✦ target site は VGCC の  $\alpha_2\delta$  subunit。
- ✦  $\text{Na}^+$  非依存性中性アミノ酸輸送系 system L を介して輸送される。



Oka et al., *Br. J. Pharmacol.* **139**, 435 (2003)

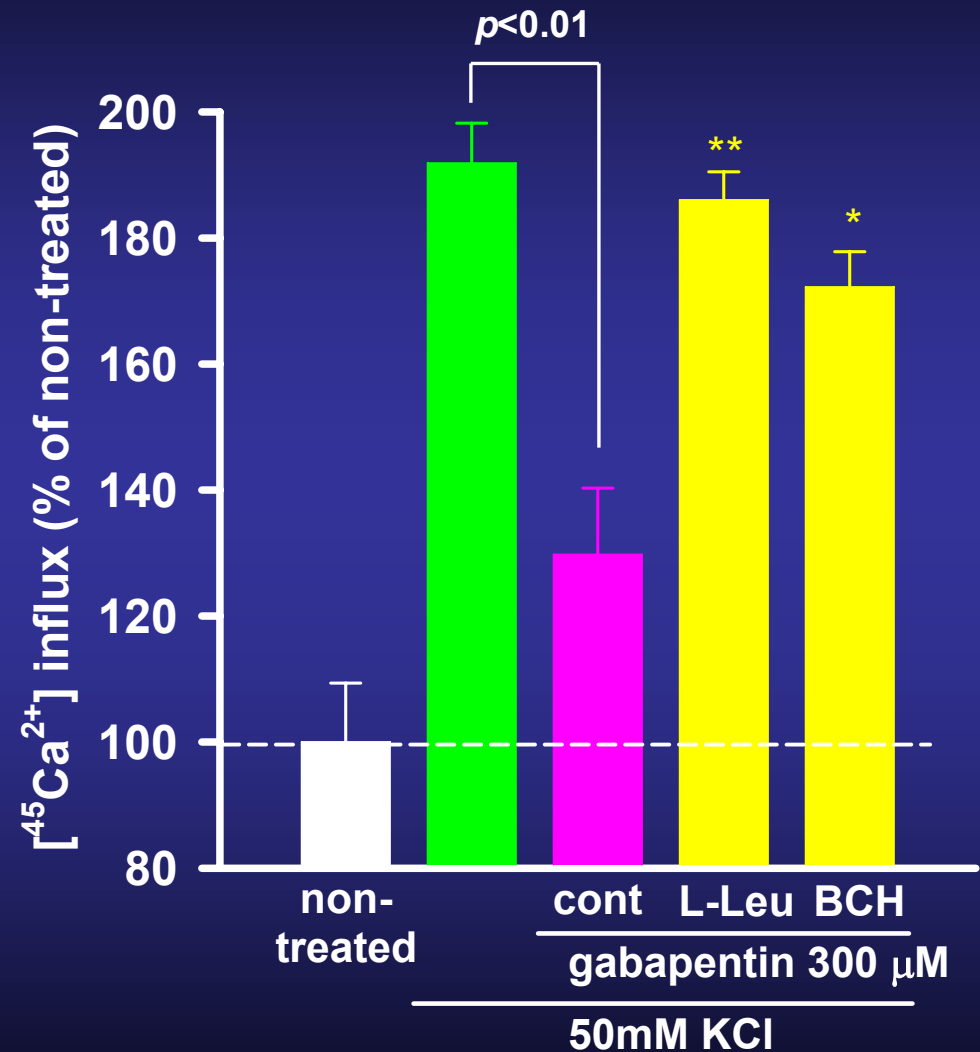
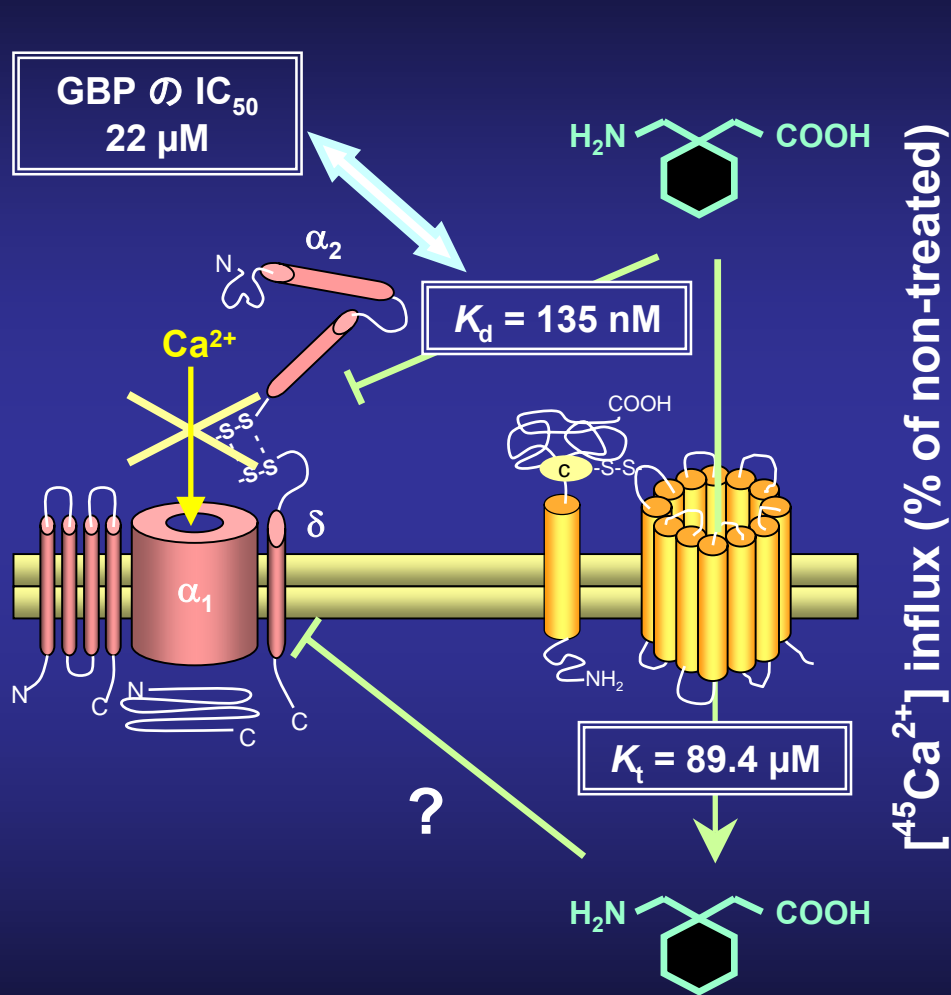
Oka et al., *Pharm. Res.* **20**, 897 (2003)

Oka et al., *Glia*, **46**, 53 (2004)

平成19年度日本薬物動態学会奨励賞受賞講演  
(Oct 8, 2007: 仙台国際センター)



# マウス大脳皮質ニューロンにおける gabapentin の [<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>] 流入抑制作用に対する system L 基質の影響



Oka et al., *Br. J. Pharmacol.* **139**, 435 (2003)

Oka et al., *Pharm. Res.* **20**, 897 (2003)

Wada et al., manuscript in preparation

平成19年度日本薬物動態学会奨励賞受賞講演  
(Oct 8, 2007: 仙台国際センター)

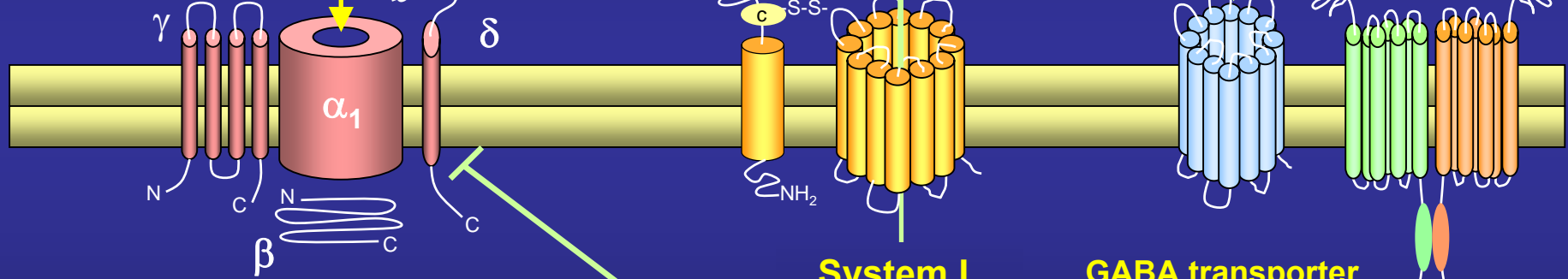
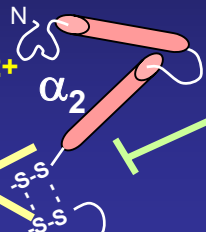
非選択的に VGCC を阻害  
 $IC_{50} = 22 \mu M$



$K_d = 135 \text{ nM}$

Voltage-gated  
 $Ca^{2+}$  channel  
(VGCC)

$Ca^{2+}$



System L

GABA transporter

$GABA_B$  receptor

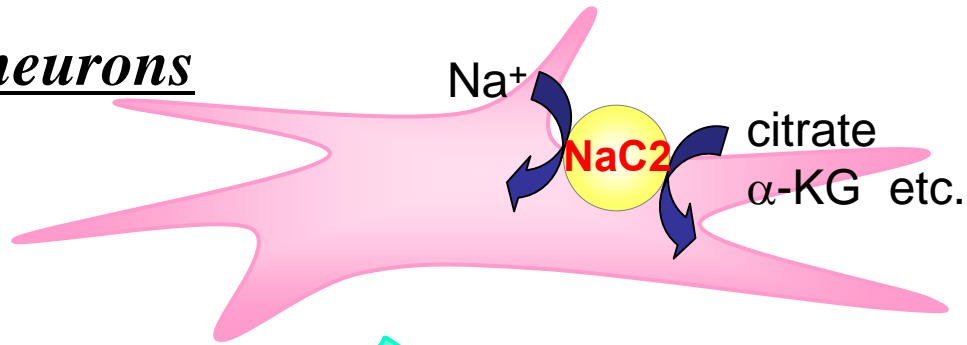
$K_t = 89.4 \mu M$



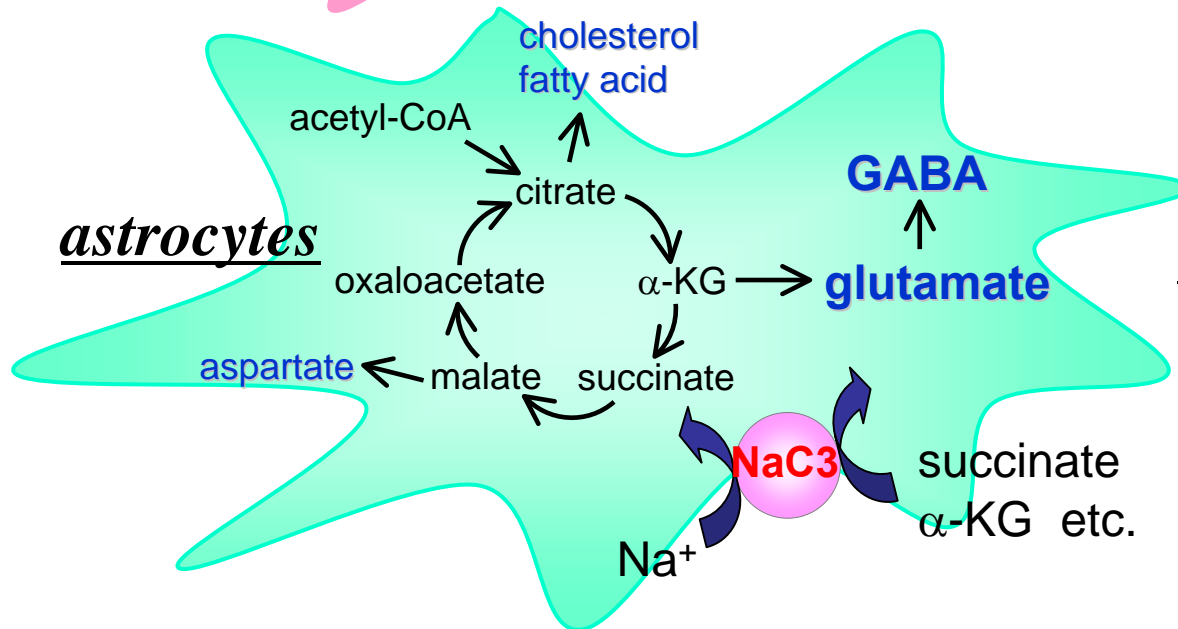
Signaling

# Na<sup>+</sup> 依存性ジカルボン酸トランスポーターの機能解析

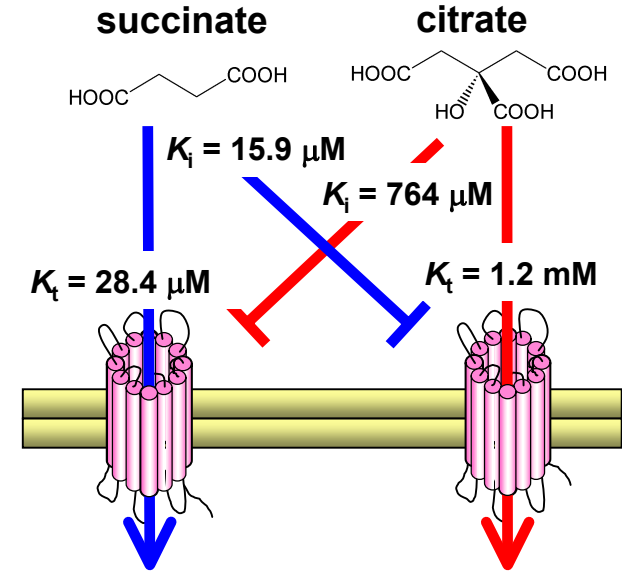
neurons



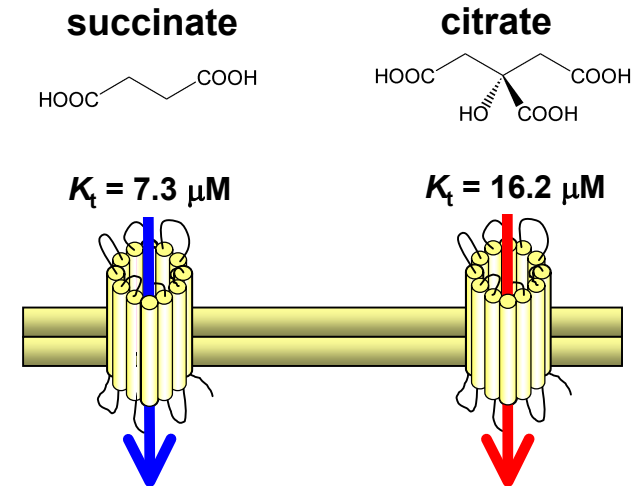
astrocytes



## Rat astrocytes (NaC3/NaDC3)



## Rat neurons (NaC2/NaCT)



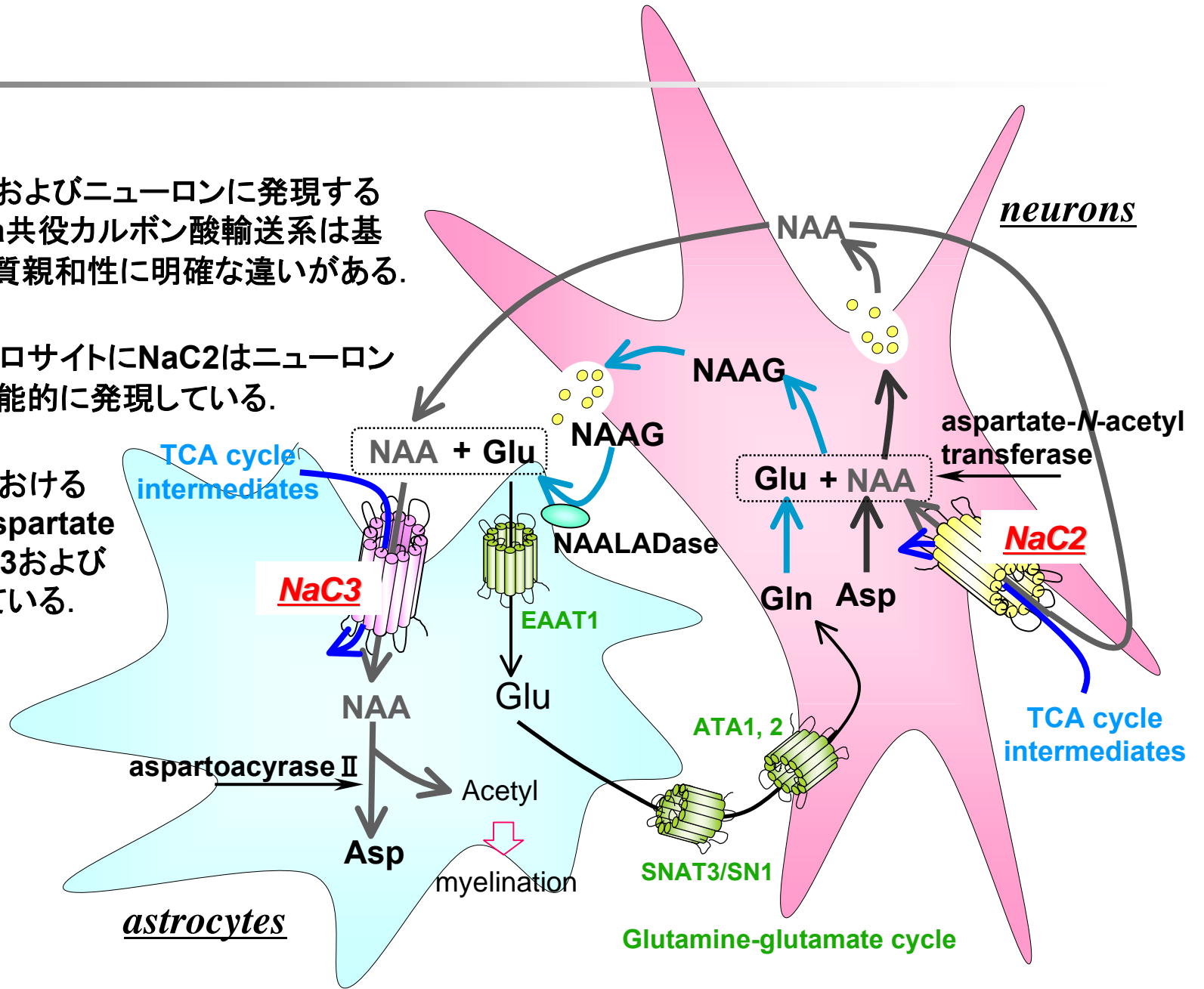
Fujita et al., *J. Neurochem.* **93**, 706 (2005)

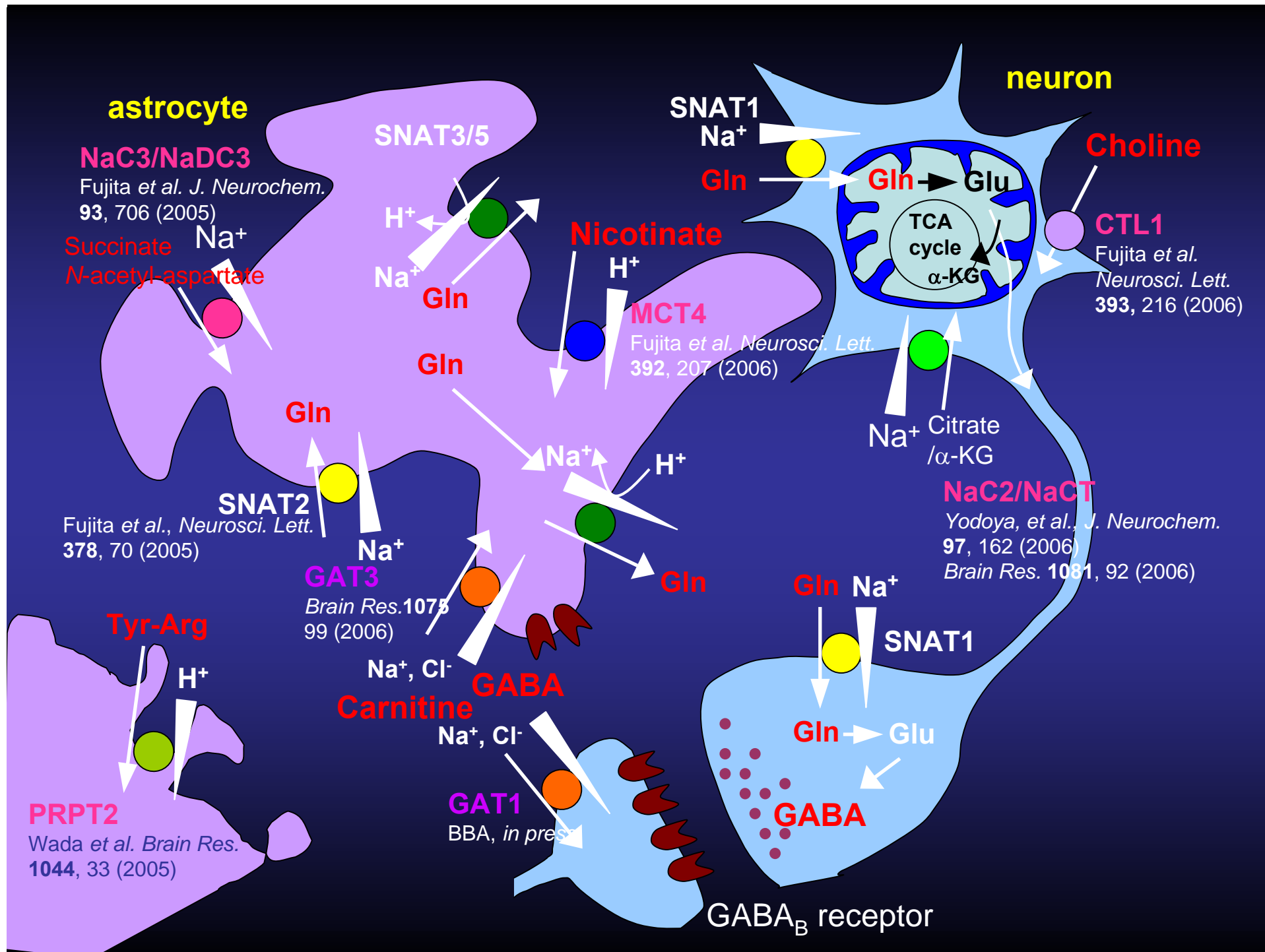
Yodoya et al., *J. Neurochem.* **97**, 162 (2006)

Wada et al. *Brain Res.*, **1081**, 92 (2006)



- \* アストロサイトおよびニューロンに発現するそれぞれのNa共役カルボン酸輸送系は基質特異性、基質親和性に明確な違いがある。
- \* NaC3はアストロサイトにNaC2はニューロンにそれぞれ機能的に発現している。
- \* 中枢神経系におけるN-acetyl-L-aspartateの輸送はNaC3およびNaC2が担っている。





# 謝 辞

- ジョージア医科大学  
Vadivel Ganapathy 教授、Frederick H. Leibach 教授
- 京都薬科大学（薬剤学教室）  
山本 昌 教授、岡田直貴 助手（現：大阪大学大学院薬学研究科講師）  
薬剤学教室大学院生（中枢トランスポーター機能解析グループ）
  - 岸田剛志（シナプトソームを用いたペプチドトランスポーターの発現変動）
  - 田中一成（アストロサイトにおけるsystem Aアミノ酸トランスポーターの発現変動）
  - 四宮賢治（PC-12 での有機カチオン性薬物の輸送特性）
  - 和田美由紀 **本受賞講演に関わる研究の基盤確立**
  - 淀谷悦生（中枢神経系における Na<sup>+</sup> 依存性ジカルボン酸トランスポーターの機能発現）
  - 勝川宏美（中枢神経系における Na<sup>+</sup> 依存性ジカルボン酸トランスポーターの機能発現）
  - 島田歩実（ニューロンにおける タウリンおよびコリントランスポーターの機能解析）
  - 藤原史織（ニューロンにおけるカルニチン輸送の機能解析）薬剤学教室教室員の皆さん（200名以上）
- ジョージア医科大学 Ganapathy/Leibach 研 OB
- 研究費：科学研究費補助金 基盤研究（B）and（C）
  - 科学研究費補助金 特定領域研究（総合脳、神経グリア回路網）
  - 武田科学振興財団 奨励研究（薬学系）