

# The underlying mechanism of the circadian expression of concentrative nucleoside transporter 2 in the intestinal epithelial cells

ジャバラ，ヌール

<https://hdl.handle.net/2324/1959096>

---

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (臨床薬学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)



氏名	Jaballah Nour			
論文名	The underlying mechanism of the circadian expression of concentrative nucleoside transporter 2 in the intestinal epithelial cells (マウス消化管における核酸輸送トランスポーターCNT2の概日リズム制御機構)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	大戸 茂弘
	副 査	九州大学	教授	小柳 悟
	副 査	九州大学	准教授	島添 隆雄
	副 査	九州大学	准教授	松永 直哉

### 論文審査の結果の要旨

ヒトをはじめとする多くの哺乳類には、睡眠、血圧、体温、ホルモン分泌などの様々な生体機能に 24 時間を周期とする概日リズムが認められ、それらは「時計遺伝子」と呼ばれる一連の遺伝子群により制御されている。時計遺伝子群は、転写・翻訳のフィードバックループを形成し、その下流にある時計出力遺伝子を介して、種々の遺伝子の発現にも時刻依存的な変動を引き起こしている。これまで当研究室では、小腸上皮細胞の細胞膜に発現する様々なトランスポーターの機能にも概日リズムがあることを見出し、栄養成分の吸収や薬物のバイオアベイラビリティに影響を及ぼすことを明らかにしてきた。そのため、細胞膜におけるトランスポーターの概日リズムを理解することは、より効果的な薬物送達法の構築につながると考えられる。

哺乳類の肝臓においてヌクレオシドの代謝に概日リズムが形成され、ヌクレオシドおよび遊離塩基の含有量に時刻依存的な変動が認められる。この概日リズムは、時計遺伝子の影響のみならず、食物由来の基質の吸収により規定されている。そのため昼夜の食物摂取量の差により小腸からのヌクレオシド吸収過程に概日リズムが生じると考えられている。核酸トランスポーターCNTs(Concentrative Nucleoside Transporter) は、ヌクレオシドおよび核酸塩基の細胞内への輸送を担う膜タンパク質として知られている。CNTs は、抗腫瘍作用および抗ウイルス作用を有するヌクレオシド誘導体の標的組織への取り込みに関与していることから、薬物動態学的側面や薬力学的側面からも重要な機能タンパク質である。しかし、ヌクレオシドの消化管吸収における生体リズムの観点から CNTs の役割は十分に解明されていない。そこで本研究は、マウス小腸の上皮細胞における CNTs の概日リズム制御機構を解明し、ヌクレオシドなど核酸の吸収に及ぼす CNTs の影響を解析することを目的とした。

第 1 章では、小腸上皮細胞の膜表面における CNTs のタンパク質の発現リズムを測定した。哺乳類の小腸には CNT1 および CNT2 が高発現している。マウスの小腸上皮細胞全体における CNT2 タンパク質の発現は一日を通して一定であったが、膜表面における CNT2 の局在には有意な概日リズムが認められた。一方で CNT1 の発現は小腸上皮細胞全体にも膜表面における局在にも概日リズムは認められなかった。膜タンパク質の局在過程にはそれを支える足場タンパク質の存在が重要である。その足場タンパク質の 1 つ PDZK1 は CNT2 と相互作用することで CNT2 の膜局在を安定化させており、その発現リズムは CNT2 と

同じ位相を示した。PDZK1 による CNT2 膜局在の安定化は、小腸管腔から上皮細胞へのアデノシンの取り込みを促進させ、その取り込み機能に時刻依存的な変動を形成させた。PDZK1 の発現リズムは、時計遺伝子により転写過程において制御されており、時計遺伝子改変マウスにおいては遺伝子の発現リズムが消失することを見出した。これらの結果は、小腸における細胞表面輸送体の概日リズムにおける新たな分子メカニズムを示唆しており、栄養素や薬物の吸収過程における時刻依存的な変動のより深い理解につながる。

第 2 章では、外部要因の 1 つである食物摂取の影響に着目し、PDZK1 および CNT2 の膜発現に対する摂食時間帯の影響を検討した。明暗条件は、SCN を介した哺乳類の概日時計システムを強力に調節する機構として知られている。一方、摂食は末梢組織における概日時計を調節することができるため、末梢組織における生体リズムを調節する外部因子として知られている。夜行性のマウスが通常摂食をする暗期にのみ給餌した群においては、自由摂食条件下のマウスと比較して、小腸上皮細胞の細胞膜における PDZK1 および CNT2 の発現リズムに変化は認められなかった。一方、明期にのみ給餌を行なった群においては、いずれのタンパク質の概日リズムも正常マウスの位相と逆位相を示すことが明らかとなった。24 時間絶食は、小腸上皮細胞における時計遺伝子の発現リズムの変化に影響を与えることなく、転写レベルで PDZK1 の概日リズムを消失させた。さらに 24 時間絶食条件における PDZK1 発現リズムの変化は、CNT2 膜局在の時刻依存性に影響しその概日リズムを消失させた。これらの結果から、足場タンパク質の機能における概日リズムは摂食のタイミングの影響を受けることが明らかとなった。摂食条件の変化が及ぼす足場タンパク質の発現リズムは、対象の膜タンパク質の発現にも影響を及ぼすことを見出した。

本研究におけるヌクレオシドの消化管吸収の時刻差は、足場タンパク質 PDZK1 の発現リズムにより形成される CNT2 の局在により引き起こされることを示した。さらに、この膜局在化過程は、分子時計の制御下にあるだけでなく、摂食のタイミングにより影響された。PDZK1 は、様々な細胞表面タンパク質と相互作用し、それらの膜発現を安定化させることから他の膜タンパク質の局在や機能も PDZK1 により時刻依存的に変動する可能性が考えられる。本研究結果は、栄養素や薬物の吸収過程における時刻依存的な変動のより深い理解につながり、効率的な薬物療法の構築に繋がることが期待される。

以上のことから、学位論文調査委員会で評価した結果、博士（臨床薬学）の学位を与えるに相応しいと判断した。