



Guanaseおよびcypinのラット消化管、尿細管における働き

A novel role for guanase and cypin in rat intestine and renal tubule

三宮 勝隆 ・ 本田 浩仁 ・ 久保謙一郎 ・ 青柳えりこ ・ 黄 慧偉
(Katsutaka Sannomiya)(Hirohito Honda) (Kenichiro Kubo) (Eriko Aoyagi) (Huiwei Huang)

何 江虹 ・ 六車 直樹 ・ 清水 一郎 ・ 伊井 邦夫 ・ 伊東 進
(Jianghong He) (Naoki Muguruma) (Ichiro Shimizu) (Kunio Ii) (Susumu Ito)

徳島大学医学部臓器病態治療医学講座



背景と目的

グアナナーゼ(guanase)は肝臓の逸脱酵素として知られており、肝臓以外の脳、小腸、腎臓などの臓器にも多く含まれている。しかし、生物学的意義は不明なままであり、各種動物で異なる臓器分布が報告されている点も興味深い。1999年にラット脳でguanaseと同じ遺伝子配列のシピン(cytosolic PSD-95 interactor ; cypin)が発見され¹⁾、脳内におけるguanaseの機能は解明されつつあるが、他の臓器における機能は不明のままである。今回はヒト組織でguanaseの存在が確認されている肝臓、小腸、腎臓をラット組織を用いて活性染色を行い、反応の有無と分布を確認し、報告されているcypinの機能と照らし合わせて各臓器における役割を推測した。



実験材料および方法

1. 検体

3～4週齢の雄Wistarラットの肝臓・小腸・腎臓・筋肉を切り出し、-80℃に迅速凍結して用いた。

2. Guanase活性染色

各臓器の新鮮凍結切片に対してグアニン(guanine)溶液を反応させ、キサンチン(xanthine)を生成させる。これにキサンチンオキシダーゼ(XOD)、ニトロブルーテトラゾリウム(NBT)溶液を反応させて生成したformazan顆粒の発色を確認した。



結果

肝臓は、組織全体に中等度の反応がみられ、明確な局在性を認めなかった(図1A)。腎臓は尿管、特に近位部に強い反応を認めた(図1B)。小腸では粘膜上皮に限局した反応を認めた。絨毛先端の分化した粘膜上皮細胞で特に反応が強く、陰窩部の未成熟な細胞では弱い傾向がみられた(図1C)。



考察

小腸の粘膜上皮細胞と腎臓の近位尿管に、きわめて強い限局性のguanase反応を認めた。ここには細胞表面積を広げて水分や栄養、電解質などを効率よく吸収するために微絨毛が密集する刷子縁という特異な細胞形態がみられる。ラット脳内の研究で、cypinがニューロンの樹状突起の発達

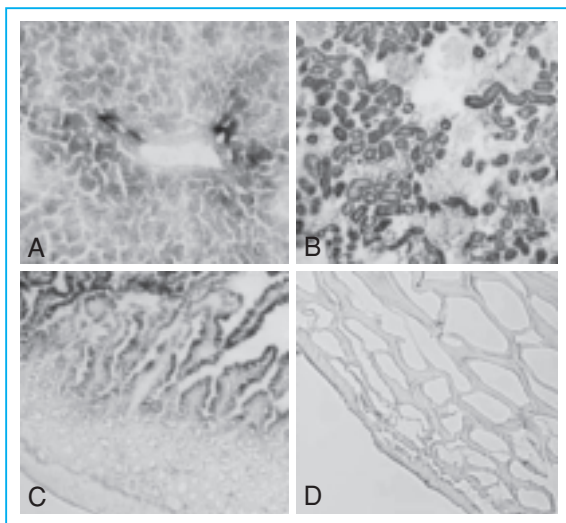


図1. ラット組織のguanase活性染色像

肝臓には組織全体に中等度の反応がみられる(A)のに対して、腎臓には近位尿細管に(B)、小腸では粘膜上皮細胞に(C)限局した強い反応がみられた。陰性対象として用いた筋肉には全く反応を認めなかった(D)。

などの細胞骨格系の機能に関わっていることが判明してきており²⁾、他の臓器でも同じような働きをしている可能性が考えられる。微絨毛の中には多数のアクチンフィラメントが縦走している。細胞骨格系の低分子GTP蛋白Rhoファミリー(Cdc42, Rac, Rhoなど)はアクチンに特異的に作用して重合を促し、なかでもRhoは長鎖状のアクチンフィラメントの形成に関わっている。樹状突起も主成分は微細管だが、先端部分の成長にはアクチンフィラメントが必要で、RhoAが発現することが報告されている³⁾。このことより、Cypin = guanaseがこれらの蛋白の調節因子として作用しているという仮説が成り立つ。

ただし、この仮説では肝臓における役割を説明するのに不十分である。また、今回用いたラット小腸では粘膜上皮細胞のみに活性反応がみられたが、以前に行ったヒト小腸を用いての実験では杯

細胞により強い反応がみられ、一方でguanase抗体による免疫反応は上皮細胞のみと差がみられた⁴⁾。ラット脳内でcypinが発見された同年、ヒト脳内でもguanaseと同一物質と思われるネダシン(neuronal and endocrine dlG/SAP102-associated protein: nedasin)が発見されている⁵⁾。このnedasinには4つのvariant forms(S, V1, V2, V3)が存在し、S formとcypinのC末端には共通の特異配列—SSSVがみられ、この部位が神経系の蛋白に高い親和性をもつことも報告されている¹⁾。CypinとnedasinのS formは同一物質で細胞骨格系に関わる同じ作用をもつと思われるが、それは生体内で複数の役割を果たすguanase = nedasinの一部の機能という可能性が高い。今回の実験で解明できなかった肝臓での働きも含め、今後も研究の継続が必要と思われる。

文 献

- 1) Firestein BL, Brenman JE, Aoki C, et al: Cypin; a cytosolic regulator of PSD-95 postsynaptic targeting. *Neuron* **24**: 659-672, 1999
- 2) Akum BF, Chen M, Gunderson SI, et al: Cypin regulates dendrite patterning in hippocampal neurons by promoting microtubule assembly. *Nat Neurosci* **7**: 145-152, 2004
- 3) Kozma R, Sarner S, Ahmed S, et al: Rho family GTPases and neuronal growth cone remodeling; relationship between increased complexity induced by Cdc42Hs, Rac1, and acetylcholine and collapse induced by RhoA and lysophosphatidic. *Mol Cell Biol* **17**: 1201-1211, 1997
- 4) 伊東 進, 岩崎明温, 春藤譲治, 他: Peroxidase標識抗体を用いたguanaseの免疫組織化学染色法. *日消誌* **85**: 42-47, 1988
- 5) Kuwahara H, Araki N, Makino K, et al: A novel NE-dlg/SAP102-associated protein, p51-nedasin, related to the amidohydrolase superfamily, interferes with the association between NE-dlg/SAP102 and N-methyl-D-aspartate receptor. *J Biol Chem* **274**: 32204-32214, 1999