



Guanaseおよびcypinの肝臓における働き

A novel role for guanase and cypin in liver

三宮 勝隆 ・ 本田 浩仁 ・ 久保謙一郎 ・ 青柳えりこ ・ 六車 直樹
 (Katsutaka Sannomiya) (Hirohito Honda) (Kenichiro Kubo) (Eriko Aoyagi) (Naoki Muguruma)

清水 一郎 ・ 伊井 邦夫 ・ 高山 哲治 ・ 伊東 進
 (Ichiro Shimizu) (Kunio Ii) (Tetsuji Takayama) (Susumu Ito)

徳島大学医学部臓器病態治療医学講座



背景と目的

グアナーゼ(guanase)は肝臓の逸脱酵素として知られており、ヒトでは脳、腎臓、小腸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⁾、ニューロン樹状突起の発達に関わる機能などが報告されてきているが²⁾、他の臓器における機能は不明のままである。今回はヒトおよびラットの肝臓・小腸・腎臓の組織に対して活性染色を行い、反応の有無と分布を確認し、報告されているcypinの性質や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

外科手術で摘出されたヒト臓器の正常部と3～4週齢の雄Wistarラットを検体として用いた。切り出した肝臓・小腸・腎臓を-80℃に迅速凍結して作成した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(xanthine oxidase)、ニトロブルーテトラゾリウ

ム(nitro blue tetrazolium)溶液を反応させて生成したformazan顆粒の発色を観察することでguanase反応を確認した。



結果

肝臓は、ヒト組織では肝細胞と胆管上皮に局限した強いguanase反応を認めたが、ラット組織では明確な局在性はなく、反応もやや弱かった。小腸は粘膜上皮、腎臓は近位尿細管に局限した強いguanase反応をヒト組織とラット組織に共通して認めた。しかしヒト小腸の杯細胞では上皮細胞よりも強い反応を認めたのに対して、ラット小腸では全く反応がなかった(図1)。



考察

強い限局性のguanase反応を認めた小腸の粘膜と腎臓の近位尿細管では、上皮細胞同士を連結する密着結合を介して水分やナトリウムイオンの吸収、再吸収が行われている。密着結合の主要蛋白の1つZO(zonula occluden)-1の分子配列はcypinの結合物質PSD-95のそれと高い相同性をもっており、guanaseがZO-1に結合し、この機能の調節に関わっている可能性を考えた。そして肝細胞も上皮細胞の一種であり管腔にあたる毛胆管に微絨毛、周辺には密着結合が存在し、肝細胞で作ら

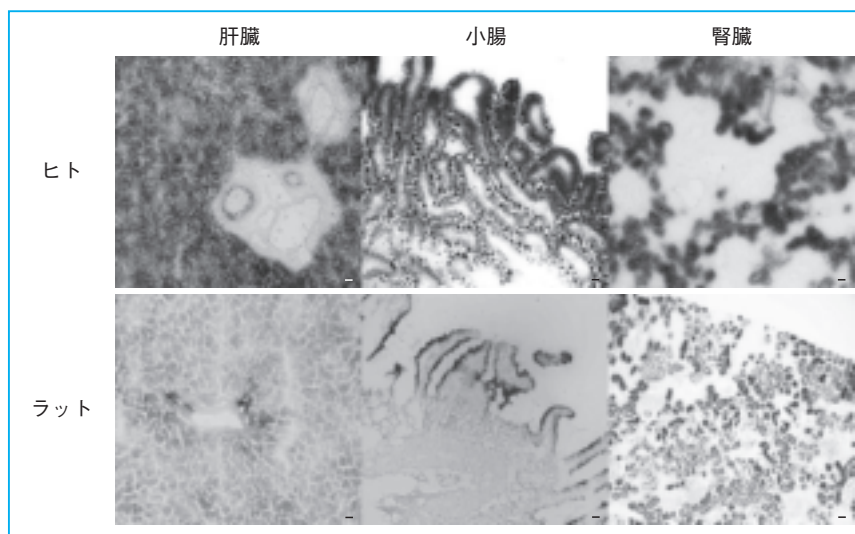


図1. ヒトおよびラット組織のguanase活性染色像
Bar = 100 μ m

れ毛細胆管に分泌される胆汁酸に細胞間隙から水分やナトリウムが加わり，毛細胆管胆汁となっている。胆汁は毛細胆管から小葉間胆管へと集まり，この経路は門脈域を中心とした肝細胞と胆管に局在するヒト肝臓guanaseの分布に一致している。またラットの胆道はヒトに比べて発達が悪く，そのことがguanase活性染色の違いの原因と考えられた。

上皮細胞におけるguanase反応の限局性と報告されているcypinの性質から小腸，腎臓および肝臓における役割を推察したが，ヒト小腸の杯細胞における反応については説明できなかった。一方で，以前に行ったguanase抗体によるヒト小腸の免疫染色では上皮細胞にしか反応を認めなかった³⁾。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⁴⁾。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PSD-95との特異的な結合に必要なことも報告されている¹⁾。

CypinとnedasinのS formは同一物質で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。今回の実験で立てた仮説の立証を進めつつ，他の機能の解明を行うための研究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) 伊東 進, 岩崎明温, 春藤譲治, 他 : Peroxidase 標識抗体を用いたguanaseの免疫組織化学的染色法. *日消誌* **85** : 42-47, 1988
- 4) Kuwahara H, Araki N, Makino K, et al : A novel NE-dlg/SAP102-associated protein, p51-nedasin, related to the aminohydrolase superfamily, interferes with the association between NE-dlg/SAP102 and N-Methyl-D-aspartate receptor. *J Biol Chem* **274** : 32204-32214, 1999