



伝子が直接同定できることが出来るようになった結果、リガンドが不明な GPCR 遺伝子が数多く見つかった。これらのリガンドが未知な GPCR はオーファン GPCR と呼ばれている。オーファン GPCR のリガンドの同定は現在重要な研究課題になっている。一方、GPCR は近代の医薬の重要な標的であった。現在世界で市販されている医薬の半数近くが GPCR に作用することにより薬効を示す物質である。従って、生理活性ペプチドとその受容体である GPCR に関する研究は基礎研究ばかりでなく応用研究としても極めて重要である。本学位論文では神経内分泌に関与する生理活性ペプチドとその受容体に関する以下の研究を行った。

(1) 視床下部ホルモンとして見いだされた Thyrotropine-releasing hormone (TRH) は下垂体前葉からの甲状腺刺激ホルモンの分泌の調節に中心的な役割を果たしているが、それ以外にも多様な生理活性を有するペプチドである。本研究では Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) と Northern blot 解析を用いてラットの末梢組織での TRH 受容体 (TRH-R) mRNA の発現分布を調べた。TRH-R mRNA は、発現量は異なるが調べた全ての末梢組織で検出されたが、子宮、胸腺、卵巣、精巣で比較的発現が高かった。これらの結果から TRH とその受容体は下垂体や中枢神経系と同様に末梢組織でも何らかの機能を持っている可能性が示唆された。

(2) データベースの検索によりヒト胎児脳の cDNA ライブラリーからラットのコレチスタチン (CST) に相同性を持つ Expressed Sequence Tag (EST) を見出した。この EST 配列情報に基づいて取得したヒト cDNA にコードされていたタンパク質はアミノ酸レベルでラットの CST 前駆体に 55% の相同性を示した。またヒト cDNA によってコードされている蛋白質の C 末端側の部分から、ラット CST の場合と同様に、29 残基と 17 残基から成る 2 種のペプチドが生

成することが予想された。実際に 17 残基のペプチド hCS-17 を合成し生理活性を調べた結果、hCS-17 はソマトスタチン受容体に結合し、細胞の cAMP の産生を抑制することが分かった。hCS-17 の脳室内投与により海馬と大脳皮質の脳波は平坦化し、睡眠調節機能を有することが確認された。これらの結果から単離されたヒト cDNA にコードされている生理活性ペプチドはヒト型 CST であることが明らかになった。

(3) ヒト下垂体より RT-PCR を利用して下垂体に特異的に発現している新規オーファン GPCR の hGR3 を単離した。次いで hGR3 のリガンドの探索を行った。オーファン GPCR を発現させた細胞に対する特異的なシグナル伝達を調べることにより検体中に含まれているリガンドを検出する方法を考案確立し、動物組織抽出物中に hGR3 に対するリガンドが含まれているかどうかを調べたところ、ウシ視床下部組織の抽出物中に hGR3 発現細胞を特異的に刺激する活性を見いだした。この活性を指標に組織抽出物の精製を進めた結果、内因性リガンドとして機能する新規生理活性ペプチドを単離同定することに成功した。このペプチドをコードする遺伝子を明らかにするとともにこのペプチドがラットの下垂体前葉細胞に対してプロラクチンの分泌を促進する作用があることを見出し Prolactin-releasing peptide (PrRP) と命名した。このようなオーファン GPCR 遺伝子から出発してリガンドを同定し、その生理機能を解析する研究方法は従来の研究の流れとは逆の研究なので、Reverse pharmacology と呼ばれている。

本研究では TRH-R mRNA の発現分布の解析から始まって、データベースを利用してヒト型 CST 遺伝子を同定し、次いでオーファン GPCR のリガンド探索方法を確立して新規生理活性ペプチド PrRP の同定に成功した。本研究は、生理活性ペプチドとその受容体について、データベースの利用やオーファン GPCR

遺伝子を利用した Reverse pharmacology の手法など新しい研究方法を導入確立し、新知見をもたらした先駆的な研究として意義があるものと確信している。