

GABA_B受容体の遺伝子解析に関する研究

(課題番号 08458244)

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金
(基盤研究 B (2)) 研究成果報告書

平成10年 3月

研究代表者 木 村 宏
(滋賀医科大学・分子神経生物学研究センター)
(神経形態学部門)



1997024233

はしがき

研究組織

研究代表者：木村 宏（滋賀医科大学・分子神経生物学研究センター・神経形態学部門）

研究経費

平成8年度 3、900千円

平成9年度 2、800千円

 計 6、700千円

研究発表

1. Wakabayashi Y, Tomoyoshi T, Tooyama I, Kitahama K, Kim SU, Maeda T: Low-affinity nerve growth factor receptor immunoreactivity in the human urinary bladder. *Neurosci. Lett.* 186:9-12, 1995.
2. Fujimiya M, Miyazaki M, Fujimura M, Kimura H: Effect of carbachol on the release of peptide YY from isolated vascularly and luminally perfused rat ileum. *Peptides* 16:939-944, 1995.
3. Nakayasu H, Kimura H, Kuriyama K: Cerebral GABAA and GABAB receptors. *Ann. NY Acad. Sci.* 757:516-527, 1995.
4. Hamaguchi A, Tooyama I, Yoshiki T, Kimura H: Demonstration of fibroblast growth factor receptor-1 in human prostate by polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *Prostate* 27:141-147, 1995.
5. Araki M, Tone S, Akagawa K, Kimura H: High potassium prompts differentiation of retinal neurons but does not favor rod differentiation. *Dev. Brain Res.* 89:103-114, 1995.
6. Yu S, Tooyama I, Ding WG, Kitasato H, Kimura H: Immunohistochemical localization of glucose transporters (GLUT1 and GLUT3) in the rat hypothalamus. *Obesity Res.* 3:753S-760S, 1995.
7. Sasaki K, Oomura Y, Li AJ, Hanai K, Tooyama I, Kimura H, Yanaihara N, Hori T: Actions of acidic fibroblast growth factor fragments on food intake in rats. *Obesity Res.* 3:697S-706S, 1995.
8. Oomura Y, Sasaki K, Li AJ, Yoshi H, Fukata Y, Yago H, Kimura H, Tooyama I, Hanai K, Nomura Y, Yanaihara N: Protection against impairment of memory and immunoreactivity in senescence-accelerated mice by acidic fibroblast growth factor. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 78:337-347, 1996.
9. Nakajima K, Tooyama I, Kuriyama K, Kimura H: Immunohistochemical demonstration of GABAB receptors in the rat gastrointestinal tract. *Neurochem. Res.* 2:211-215, 1996.
10. Hirouchi M, Tooyama I, Kimura H, Kuriyama K: Molecular biological approaches to the GABAB receptor. *Pharmacol. Rev. Comm.* 8:151, 1996.
11. Kimura H, Terai K, Tooyama I, Kuriyama K: Immunohistochemical demonstration of GABAB receptors in the rat brain. *Pharmacol. Rev. Comm.* 8:167, 1996.
12. Terada H, Nagai T, Kimura H, Kitahama K, Okada, S: Distribution of nitric oxide synthase-immunoreactive neurons in fetal rat brains at embryonic day 15 and day 19. *J. Chem. Neuroanat.* 1:273-278, 1996.
13. Takeichi Y, Nakasu Y, Tooyama I, Kimura H: Basic FGF partially prevents degeneration of paraventricular vasopressin neurons after hypophysectomy. *Restr. Neurol. Neurosci.* 10:161-166, 1996.
14. Arai R, Kimura H, Nagatsu I, Maeda T: Preferential localization of monoamine oxidase type A

- activity in neurons of the locus coeruleus and type B activity in neurons of the dorsal raphe nucleus of the rat; a detailed enzyme histochemical study. *Brain. Res.* 745:352-356, 1997.
15. Matsuoka Y, Kitamura Y, Fukunaga R, Shimohama S, Nabeshima T, Tooyama I, Kimura H, Taniguchi T: In vivo hypothermia-induced neuronal damage in dentate gyrus of rat hippocampus: changes in NMDA receptors and the effect of MK-801. *Neurochem. Int.* 30:533-542, 1997.
 16. Matsuoka Y, Kitamura Y, Tooyama I, Kimura H, Taniguchi T: In vivo hypothermia-induced neuronal damage with an enhancement of neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in hippocampus. *Exp. Neurol.* 146:57-66, 1997.
 17. Ding WG, Kitasato H, Kimura H: Development of neuropeptide Y innervation in the liver. *Microscopy Research and Technique* 39:365-371, 1997.
 18. Ding WG, Kimura H, Fujimura M, Fujimiya M: Neuropeptide Y and peptide YY immunoreactivities in the pancreas of various vertebrates. *Peptides* 18:1523-1529, 1997.
 19. Terai K, Tooyama I, Kimura H: Immunohistochemical localization of GABAA receptors in comparison with GABA-immunoreactive structures in the nucleus tractus solitarii of the rat. *Neuroscience* 82:843-852, 1998.
 20. Ding W-G, Guo L-D, Kitasato H, Fujimura M, Kimura H: Phylogenetic study of calcitonin gene-related peptide-immunoreactive structures in the pancreas. *Histochem Cell Biol* 109:103-109, 1998.

研究成果概要

神経系における主要な抑制性神経伝達物質であるγアミノ酪酸(GABA)の受容体はA型とB型2種類のサブタイプに分類される。このうち、B型受容体に関しては、その分子構造や機能特性が不明なため、的確な作動薬や拮抗薬の開発が妨げられている。本研究の初年度においては、精製B型GABA受容体蛋白およびそれに対するモノクローナル抗体を用いて、ラット脳におけるB型受容体のcDNAクローニングに着手した。この実験はほぼ成功し、これまで6種類のクローンを得ることができた。その部分配列を解析したところ、ほとんどは全く新しい分子構造であったが、例外的に1つのクローンは嗅覚受容体として知られている物質と薬50%のホモロジーが認められた。しかし、嗅覚受容体がラット脳に存在するという報告はなく、やはり新規の受容体分子を構成するものと思われた。さらに重要な事実として、得られた6種の核酸配列は全てグアニジン蛋白(G蛋白)受容体に共通する配列をもつことが挙げられる。これら6種全てのクローンについて全配列の決定実験を3' RACE法を用いて、さらに検討中である。

もう一つの研究課題は、B型受容体の神経組織における分布様式を免疫組織化学で明らかにすることであるが、これに関しては、成熟および幼若ラットの脳内分布を調べ論文公表し、さらに腸管神経系における分布も国際シンポジウムで発表した。脳内分布については、A型受容体との相補的機能がしばしば認められた。

将来の課題として、得られたクローンに基づきタンパク発現させ、受容体機能を確認する必要がある。なお、本研究の遂行期間中に、B型受容体の配列の一つがネイチャー誌に報告されたが、未だ生理機能を確認した論文はなく、本研究で見出したタンパクとの共通性はないものと考えられた。