

学位論文審査結果の要旨

氏名	安部 賢郎
審査委員	主査 大澤 春彦 副査 野元 正弘 副査 鈴木 由香 副査 小原 克彦 副査 永井 勅久

論文名 アラニン：グリオキシレートアミノトランスフェラーゼ2の脳内分布

審査結果の要旨 (2,000字以内)

(標準書式：日本工業規格A4, 11ポイント1行42字, 1ページ40行)

[背景と目的] Alanine: glyoxylate aminotransferase 2 (AGXT2)は、thymineの分解産物であるD体の3-amino isobutyric acid (DAIB)を2-methyl-3-oxopropanoateに分解する唯一の生体内酵素である。申請者らの教室では、ラット肝臓からAGXT2を精製し、その特徴を解析してきた。AGXT2は、腎臓、肝臓に豊富に存在する一方、脳にも発現する。最近、AGXT2の新たな機能として、一酸化窒素合成酵素(NOS)の競合阻害物質であるasymmetric dimethylarginine (ADMA)を分解し、NO合成を促進することが報告された。Endothelial NOSとneuronal NOSは、脳血流、細胞の生存、アルツハイマー病、ハンチントン病、てんかん発作、偏頭痛などの病因に関わる神経細胞や神経線維の保護に関与する。ADMA濃度の上昇は、糖尿病、高血圧、うっ血性心不全、動脈硬化の発症リスクと正に関連する。さらに、Alzheimer's Disease(AD)の危険因子となる。しかしながら、AGXT2の脳内における病態生理学的意義は不明である。そこで、申請者は、AGXT2の脳における意義を解明するために、AGXT2の脳内分布を、mRNAとタンパクレベルで解析した。

[方法] 正常ラットの脳組織を安楽死後に摘出し、前頭葉、側頭葉、線条体、視床、海馬、中脳、橋、小脳、嗅脳の9か所に分けた。各組織からtotal RNAを抽出し、AGXT2遺伝子の脳内mRNAをquantitative RT-PCRにより定量した。内部標準としては、GAPDHを用いた。残りの組織から

タンパクを抽出し、申請者らの教室で作成した一次抗体を用いたウェスタンブロッティングにより、AGXT2 タンパクを定量した。GAPDH を内部標準とし、ソフト(image J)を用いて数値化した。さらに、ラット脳の組織切片を作成し、免疫組織染色を行った。

[結果] AGXT2 遺伝子の mRNA は、検討したすべての脳内部位に存在した。相対的には、脳の皮質、線条体、海馬などに多かったが、有意差は認めなかった。タンパク定量の結果、中脳や橋といった脳幹部及び海馬に、他の部位に比し多く分布していた。免疫組織では、大脳皮質においては、表層が弱く、深層が強く染まり、特に retrosplenial cortex が強く染まっていた。海馬は全体に強く、脳幹部の各部位の細胞が強く染まっていた。

[考察] Real time PCR、Western Blot、免疫組織染色の結果、AGXT2 は、中脳や橋といった脳幹部、海馬に多く分布していた。また、免疫組織染色では、retrosplenial cortex が強く染まっていた。全体としては、AGXT2 は、広く脳内に発現しており、中でも、retrosplenial cortex から海馬にかけて強く発現していると考えられた。Retrosplenial cortex の障害は、エピソード記憶の障害を起こすことが知られている。また、AGXT2 は、海馬や retrosplenial cortex に多く分布することから、地誌的記憶などに関連するとも考えられる。さらに、AGXT2 は、ADMA を分解することにより、NO 合成を促すことが報告されており、脳血管障害に関連することも考えられる。実際、AGXT2 ノックアウトマウスでは、血圧が上昇することが報告されている。また、興味深いことに、日本人の約 3 割は AGXT2 酵素活性を欠損している。申請者らは、AGXT2 によって分解される DAIB の尿中濃度が、AGXT2 のミスセンス変異をきたす一塩基多型 (SNP) と関連する可能性を見出している。今後アルツハイマー病や脳血管障害などの疾患や臨床パラメーターと尿中 DAIB 及び AGXT2 の SNP についての関連を詳細に解析していくことにより、本研究がさらに発展していくことが期待される。

本論文の公開審査会は、平成 25 年 1 月 30 日に開催された。申請者は、本研究の意義と内容について明確に発表した。各審査員からは、抗 AGXT2 抗体の特異性、尿中 DAIB 濃度を規定する上で最も重要な AGXT2 発現組織、ADMA 分解酵素としての AGXT2 と DDAH1 との重要性の違い、高 ADMA が高血圧を惹起する機序、eNOS と nNOS に対する AGXT2/ADMA の意義の違い、AGXT2 の SNP の疾患感受性遺伝子としての可能性、血中 DAIB 測定の可能性等についての広範に渡る質問がなされた。

申請者は、これらに対し、いずれにも的確に回答した。審査委員は、発表、質疑応答を含めて本論文を高く評価し、全員一致で、博士(医学)の学位論文に十分値すると評価した。