

# 審査結果の要旨

論文題目「生体における非酵素的翻訳後修飾の加齢関連疾患に対する役割の検討」

学位申請者 勝田 奈那

本論文は、加齢関連疾患と翻訳後修飾 (Post-translational modification: PTM)との関連性を検討したものである。心血管疾患や糖尿病などの疾患が急増しているが、それら病態の要因は遺伝子変異やタンパク質発現の変動だけでは説明できない部分があり、PTM という視点から病態の原因究明および進行を評価している。これまでにタンパク質の N 末端やε-アミノ基にグルコース等の還元糖やジカルボニル化合物がメイラード反応により結合して Advanced glycation end-products (AGEs) が生成され、生体タンパク質の変性に関与することが知られている。同様の PTM として、ミトコンドリアの機能異常に伴い Tricarboxylic acid (TCA) 回路中間体であるフマル酸が酵素の活性部位等に存在するシステインのチオール基と Succination によって結合し S-(2-succinyl)cysteine (2SC) が生成されることが見いだされている。過去 30 年程の研究で AGEs は生活習慣病との関与が報告されているが、2SC は測定が困難であり生理的な役割は不明な点が多い。今回、2SC 生成の意義および AGEs との関連性を評価する目的で、(1) 加齢に伴うマウス組織中 2SC および AGEs の変動、(2) 腎機能低下に伴うヒト血清中 2SC および AGEs の変動を検討している。発表内容について、以下に経過を報告する。

## (1) 加齢に伴うマウス組織中 2SC および AGEs の変動:

脳は加齢に伴う神経変性が認知機能低下との関連が示唆されており、また、肝臓や腎臓の機能も加齢に伴い低下することが報告されている。申請者は、ヒト関節軟骨および皮膚コラーゲン、水晶体における AGEs は加齢に伴い増加することは報告されているが、2SC と加齢に関しては知見が乏しいことに着目し、液体クロマトグラフィー・タンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いて生体組織中 2SC の測定系を検討している。その結果、脳中 2SC は他の臓器と比較して顕著に高く、その蓄積量は週齢依存的に有意に増加することを明らかにしている。これに対して、肝臓中 2SC は 12 週齢と比較して 96 週齢で有意に高値を示したが、腎臓においては加齢による変化は認められず、さらに、2SC 前駆体であるフマル酸の脳中濃度はいずれの週齢でも同程度であったのに対し、肝臓および腎臓においては加齢に伴い有意に増加することも報告している。また、酸化依存性 AGEs である N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine (CML)は脳と腎臓で加齢に伴い有意に増加しているが、糖代謝異常において生成される N<sup>ε</sup>-(5-hydro-5-methyl-4-imidazolone-2-yl)-ornithine (MG-H1) は腎臓においてのみ変動することを報告している。つまり、加齢に伴う PTM の蓄積は構造や組織によって異なること、その違いは前駆体や酸化ストレスの変動、臓器の代謝を反映している可能性があり、特に脳と腎臓の代謝は加齢により PTM の影響を受けやすいことを示している。

## (2) 腎機能低下に伴うヒト血清中 2SC および AGEs の変動:

慢性腎臓病 (CKD) は完治が困難であることや、その病態進展のメカニズムは不明な点が多い。申請者は、腎機能の維持に必要なエネルギー産生の大半はミトコンドリアによる代謝に依存していることに着目し、2SC をはじめとするヒト血清中代謝物の変動を評価している。倫理委員会の承認後、本学医学部より供与を受けた腎ドナー患者および腎移植患者血清から脂質や低極性物質

を除去することによって LC-MS/MS で遊離型 2SC および CML、MG-H1 を測定し、フマル酸値や腎機能との関連を評価している。その結果、腎機能低下に伴い 2SC および AGEs は有意に増加し、腎移植によって顕著に低下することを確認している。これに対して、フマル酸値は末期腎不全状態でのみ変動が認められている。そして、2SC および CML、MG-H1 は既存の腎機能マーカーである血清クレアチニン値および推算糸球体濾過量 (eGFR) との相関が認められている。これら結果より、腎機能低下に伴い腎臓において産生が増大したフマル酸が腎組織を修飾し、2SC が産生、血中へと放出されたことが推測されている。本研究は CKD におけるミトコンドリア代謝異常の関与を裏付けるものであり、2SC と腎機能の関係をはじめて明らかにした報告である。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。

したがって、学位申請者 勝田 奈那 氏は東海大学博士（農学）の学位を授与されるに値すると判断した。

#### 論文審査委員

主査	博士（工学）	米田 一成	農学部教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士（理学）	山口 浩	農学部教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	Ph. D	今川 和彦	総合農学研究所教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士（農学）	佐藤 祐介	農学部准教授	(生物科学研究科生物科学専攻)
委員	博士（医学）	永井 竜児	農学部教授	(生物科学研究科生物科学専攻)