

医研第327号

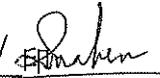
(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Contribution of liver mitochondrial membrane-bound glutathione transferase to  
mitochondrial permeability transition pores

(肝ミトコンドリア膜結合性グルタチオントランスフェラーゼの透過性遷移孔への  
関与)

氏 名 QUAZI SOHEL HOSSAIN 

## 【背景】

グルタチオントランスフェラーゼ (GST) は抗がん剤や外来異物のグルタチオン抱合反応を触媒する第2相の薬物代謝酵素で、細胞質性と膜結合性がある。ミクロソーム膜 MGST1 は3量体で、サブユニット当たり1個のSH基を有し、このSH基の修飾で活性化される。最近我々は、ミトコンドリア膜のGST (mtMGST1) が酸化ストレスでSH基のグルタチオン化 (混合ジスルヒド結合) により活性化され、透過性遷移孔 [Mitochondrial permeability transition (MPT) pore] を形成し、ミトコンドリアからチトクロムC (Cyt C) の遊離を引き起こすことを報告した。本研究では、mtMGST1 とMPTとの関係を明らかにするためにプロオキシダントのGallic acid (GA) を用いて検討した。

## 【実験方法】

SDラットの肝からミトコンドリアを分離し、GAを作用させGST活性を測定した。また、抗酸化酵素 (SOD、catalase)、一重項酸素消去剤 [DABCO、 $\beta$ -carotene (BC)、Histidine (His)]、GST阻害剤 [Cibacron blue (CB)、Tannic acid (TA)、Hematin (HM)] およびMPT阻害剤 [Cyclosporin A (CsA)、Bonqkreki acid (BKA)、ADP] のGST活性への影響を検討した。さらに、GAによるミトコンドリアのSwellingおよびCytCの遊離に対するGSTおよびMPT阻害剤の影響を検討し、 $Ca^{++}$ の作用と比較した。

## 【結果・考察】

- ① mtMGST1活性はGAで2~3倍に増加し、この増加は抗酸化酵素のSOD、Catalaseや一重項酸素消去剤のDABCO、BC、Hisで抑制された。また、GAによるmtMGST1の活性化はスルフェン酸還元剤の亜ヒ酸ナトリウムで回復した。これらの結果から、mtMGST1はGAから生成される一重項酸素によりSH基がスルフェン酸 (-SOH) に酸化され、活性化されることが示唆された。
- ② ミトコンドリアにGAを作用させるとSwellingを生じ、このSwellingはDABCOやGST阻害剤で抑制されたが、MPT阻害剤では抑制されなかった。CytC遊離もDABCOやGST阻害剤で抑制された。
- ③  $Ca^{++}$ によるSwellingとCytC遊離はMPT阻害剤で抑制されたがGST阻害剤では抑制されなかった。
- ④ GAをミトコンドリアに作用させた後、外膜・内膜を分離すると外膜のGST活性の増加と蛋白重合が認められた。

以上の結果は、ミトコンドリア外膜のmtMGST1はGAによりSHが酸化され、蛋白重合を生じ、活性酸素依存性で、CsA非依存性のMPT poreを形成してswellingを起こし、CytCを遊離することを示しており、mtMGST1が $Ca^{++}$ で誘導されるMPT poreとは異なる新規のporeを形成することを示唆している。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第327号 論文博	氏名	Quazi Sohel Hossain
論文審査委員	審査日	平成20年12月24日	
	主査教授	荻谷 研一	
	副査教授	宇野 司	
	副査教授	森 直樹	
(論文題目)			
Contribution of liver mitochondrial membrane-bound glutathione transferase to mitochondrial permeability transition pores (肝ミトコンドリア膜結合性グルタチオントランスフェラーゼの透過性遷移孔への関与)			
(論文審査結果の要旨)			
上記論文に関し、慎重に審議を行い、次のような結果を得た。			
1) 研究の背景と目的			
<p>グルタチオントランスフェラーゼ (GST) は抗がん剤や外来異物のグルタチオン抱合反応を触媒する第2相の薬物代謝酵素で、細胞質性と膜結合性がある。膜結合性の MGST1 は3量体で、サブユニット当たり1個のSH基を有し、このSH基の修飾で活性化される。最近著者らは、ミトコンドリア膜の GST (mtMGST1) が酸化ストレスでSH基のグルタチオン化(混合ジスルヒド結合)により活性化され、透過性遷移孔 [Mitochondrial permeability transition (MPT) pore] を形成し、ミトコンドリアからシトクロムc (Cyt c) の遊離を引き起こすこと報告した。本研究では、mtMGST1 と MPT との関係を明らかにするためにプロオキシダントの Gallic acid (GA) を用いて検討した。</p>			
2) 研究内容			
① SD ラット肝から分離したミトコンドリアに GA を作用させると、mtMGST1 活性は2~3倍に増加し、この増加は抗酸化酵素の SOD、Catalase や一重項酸素消去剤の DABCO、β-Carotene (BC)、Histidine (His) で抑制された。また、GA による mtMGST1 の活性化はスルフェン酸還元剤の亜ヒ酸ナトリウムで回復した。これらの結果から mtMGST1 は GA から生成される一重項酸素により SH 基がスルフェン酸 (-SOH) に酸化され、活性化されることが示唆された。			
② ミトコンドリアに GA を作用させると swelling を生じ、この swelling は DABCO や GST 阻害剤 (Cibacron blue、Tannic acid、Hematin) で抑制されたが、MPT 阻害剤 [Cyclosporin A (CsA)、Bongkrekic acid、ADP] では抑制されなかった。Cyt c 遊離も DABCO や GST 阻害剤で抑制された。			
③ Ca <sup>++</sup> による swelling と Cyt c 遊離は MPT 阻害剤で抑制されたが GST 阻害剤では抑制されなかった。			
④ GA をミトコンドリアに作用させた後、外膜・内膜を分離すると外膜の GST 活性の増加と蛋白の oligomerization が認められた。			
以上の結果は、ミトコンドリア外膜の mtMGST1 は GA により SH が酸化され、oligomerization を生じ、CsA 非感受性の MPT pore を形成して swelling を起こし、Cyt c			

を遊離することを示しており、mtMGST1 が  $\text{Ca}^{++}$  で誘導される MPT pore とは異なる新規の pore を形成することを示唆している。

### 3) 研究成果の意義と学術的水準

本研究は、ミトコンドリア mtMGST1 が活性酸素で活性化され、従来の MPT pore とは異なる新規の pore を形成し、Cyt c の遊離に関与することを示しており、ミトコンドリア膜透過性制御の新機構を提示するもので、学術的な水準は極めて高い。

以上の結果から、本論文は学位授与に十分値するものと判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。