

医研第320号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Novel function of glutathione transferase in rat liver mitochondrial membrane:

Role for cytochrome *c* release from mitochondria

(ラット肝ミトコンドリア膜結合性のグルタチオントランスフェラーゼの新機能:
ミトコンドリアからのチトクロム C 遊離に対する役割)

氏 名 李 康 宏



論文要旨

(1)

背景 : グルタチオントランスフェラーゼ (G S T) は、発癌性化学物質、環境汚染物質、抗癌剤や酸化ストレスで生じる過酸化物のグルタチオン抱合を触媒する酵素である。G S T は、可溶性と膜結合性とがあり、肝ミクロソーム膜の G S T (M G S T I) は、3量体で1サブユニットに1個の S H 基を有し、この S H 基のアルキル化や酸化修飾で活性化されることが知られている。M G S T I はミトコンドリア外膜にも存在するが、このミトコンドリア膜結合性 G S T (m t M G S T I) の活性化やその機能に関する研究はない。本研究では *i n v i v o* および *i n v i t r o* における酸化ストレスで m t M G S T I が活性化されるか、また、m t M G S T I の活性化はミトコンドリアからの *c y t o c h r o m e c* (C y t C) 遊離に関与するかについて検討した。実験方法 : *I n v i v o* の実験では D - G a l a c t o s a m i n e (G a l N 、 6 0 0 m g / k g 、 s . c .) および L i p o p o l

y s a c c h a r i d e (L P S 、 0 . 5 μ g /
k g 、 i . p .) の 投 与 で 酸 化 ス ト レ ス 性 肝 障
害 を 引 き 起 こ し た ラ ッ ト の 肝 ミ ト コ ン ド リ ア
を 用 い た 。 I n v i t r o の 実 験 で は 酸 化 剤 で
あ る d i a m i d e (D M) ま た は D M と G S
H を 正 常 ラ ッ ト か ら 分 離 し た ミ ト コ ン ド リ ア
に 作 用 さ せ た 。 そ れ ぞ れ の ミ ト コ ン ド リ ア の
m t M G S T 1 の 活 性 化 、 C y t C の 遊 離 等 を 測
定 し た 。 結 果 : G a l N / L P S を 投 与 し た ラ
ッ ト の 肝 ミ ト コ ン ド リ ア で は 、 m t M G S T 1
が ダ イ マ ー お よ び 混 合 ジ ス ル フ ィ ド 結 合 に よ
り 活 性 化 さ れ 、 C y t C の 遊 離 が 観 察 さ れ た 。
こ の C y t C の 遊 離 は 、 ミ ト コ ン ド リ ア に 抗 M
G S T 1 抗 体 を 作 用 さ せ る と 抑 制 さ れ た 。 I
n v i t r o の 実 験 で は 、 D M は ジ ス ル フ ィ ド
結 合 性 ダ イ マ ー 、 D M と G S H で は 混 合 ジ ス
ル フ ィ ド 結 合 を 生 成 し て m t M G S T 1 を 活 性
化 す る こ と が 確 認 さ れ た 。 ま た 、 D M と G S
H に よ り ミ ト コ ン ド リ ア か ら C y t C が 遊 離 さ
れ 、 こ の 遊 離 は 抗 M G S T 1 抗 体 に よ り 抑 制

された。さらに、DMとGSHはミトコンドリア膨化を生じ、これはMitochondrial Permeability Transition (MPT) 阻害剤のCyclosporin A (CsA)、Bonagratic acid (BKA) で抑制された。また、CsA、BKAはミトコンドリアの膨化を抑制する濃度でmtMGST1活性を阻害した。以上の結果は、mtMGST1は混合ジスルフィド結合を介して活性化され、この活性化はMPT poreからのCytCの遊離を引き起こすことを示しておりアポトーシスにおけるmtMGST1の新しい役割を示唆している。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	* <u>課程博</u> 論文博	第 <u>320</u> 号	氏名	李 康広
論文審査委員	審査日	平成 20年 7月 28日		
	主査教授	<u>荻谷 研一</u>		印
	副査教授	<u>野 司</u>		印
	副査教授	<u>森 直樹</u>		印
(論文題目)				
Novel function of glutathione transferase in rat liver mitochondrial membrane: Role for cytochrome c release from mitochondria(ラット肝ミトコンドリア膜結合性のグルタチオントランスフェラーゼの新機能: ミトコンドリアからのチトクロムC遊離に対する役割)				
(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				
グルタチオントランスフェラーゼ(GST)は、抗癌剤や酸化ストレスで生じる過酸化物のグルタチオン抱合を触媒する酵素である。GSTには、可溶性と膜結合性があり、肝ミクロソーム膜のGST(MGST1)は、3量体で1サブユニットに1個のSH基を有し、このSH基のアルキル化や酸化修飾で活性化されることが知られている。MGST1はミトコンドリア外膜にも存在するが、このミトコンドリア膜結合性GST(mtGST)の活性化やその機能に関する研究はない。本研究ではin vivo および in vitro における酸化ストレスでmtGSTが活性化されるか、また、mtGSTの活性化はミトコンドリアからのcytochrome c(Cyt c)の遊離に関与するかについて検討した。				
2) 研究内容				
酸化ストレス性肝障害を引き起こすガラクトサミン/リポポリサッカライド(GL)を投与したラットの肝ミトコンドリアでは、mtGSTがダイマーおよび混合ジスルフィド結合により活性化され、Cyt cの遊離が観察された。このCyt cの遊離は、ミトコンドリアに抗MGST1抗体を作用させると抑制された。また、in vitro でダイアミド(DM)およびDMとグルタチオン(GSH)をミトコンドリアに作用させるとDMはジスルフィド結合性ダイマー、DM/GSHでは混合ジスルフィド結合を生成してmtGSTを活性化することが確認された。また、DM/GSHによりミトコンドリアからCyt cが遊離され、この遊離は抗MGST1抗体により抑制された。さらに、DM/GSHはミトコンドリアの膨化(swelling)を生じ、これはMitochondrial Permeability Transition(MPT)阻害剤のcyclosporin A(CsA)、Bongkrekiel acid(BKA)で抑制された。また、CsAおよびBKAはミトコンドリアの膨化を抑制する濃度でmtGST活性を阻害した。以上の結果は、mtGSTは混合ジスルフィド結合を介して活性化され、この活性化はMPT poreからのCyt cの遊離を引き起こすことを示しており、アポトーシスにおけるmtGSTの新しい役割を示唆している。				
3) 研究成果の意義と学術的水準				
本研究は、解毒酵素のGSTがミトコンドリア膜では酸化ストレスで活性化され、Cyt cの遊離に関与するという、アポトーシス分野に新しい知見を付加しており、学術的な水準も非常に高いものである。				
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、A4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。