

論文内容の要旨

論文提出者氏名 有吉 真

論文題目

D-Glutamate is metabolized in the heart mitochondria.

論文内容の要旨

心不全は、あらゆる心疾患から生じる病態であり、薬物治療、カテーテル治療、外科手術、再生医療など様々な治療の進歩にも関わらず、依然予後は不良であり更なる治療法の開発が待たれている。細胞内小器官の一つであるミトコンドリアは生命活動維持に必要なエネルギー産生を担うと共に酸化ストレスや細胞死の制御も行うことが知られており、その質的・量的異常が心不全の病態形成に重要な役割を果たすことが明らかとなっている。

本研究では機能未知の新規ミトコンドリアタンパク質に注目し、その機能解析を行うことで新たな心不全治療法の開発につなげることを目的とした。横行大動脈縮窄術により作成した圧負荷心不全モデルマウスを用い、ミトコンドリアタンパク質の網羅的解析を行うことで、心不全において発現が減少する機能未知の新規ミトコンドリアタンパク質；9030617003Rik に注目した。マイクロアレイにおいても心不全で 9030617003Rik の mRNA の発言が減少することを確認した。

9030617003Rik の細胞内局在検討では心筋細胞内のミトコンドリアに局在し、ミトコンドリア内では内膜に接する形でマトリックスに存在することが同定された。

データベース上のアミノ酸配列からの機能解析により、9030617003Rik が細菌である *Thermovirga lieni* のアミノ酸ラセマーゼと高い相同性を有することを確認した。ラセマーゼはアミノ酸の光学異性体である L-アミノ酸と D-アミノ酸の相互変換酵素であり、現在ヒトを含む哺乳類において存在が確認されているものはセリンラセマーゼのみであり、他にアスパラギン酸ラセマーゼの存在が示唆されている。そこでノックアウトマウスを作製し、その心臓内の全遊離型アミノ酸を 2 次元 HPLC を用い L 型、D 型に分離し測定を行った結果、ノックアウトマウス群においてコントロール群

と比較し D-グルタミン酸が有意に蓄積することが確認された。哺乳類の組織内において遊離型 D-グルタミン酸の存在が確認されたのは世界初の知見である。

9030617003Rik が D-グルタミン酸の代謝に関与している可能性が示唆されたため、9030617003Rik の酵素学的検討を行ったところ、D-グルタミン酸から 5-オキソ-D-プロリンを生成する D-グルタミン酸シクラーゼであることが同定された。本研究により哺乳類における D-グルタミン酸シクラーゼが初めて同定された。

永らく生物界においては細菌の細胞壁などを除き、生体を構成するアミノ酸の主体は L 型であり、その光学異性体である D 型は存在しないと考えられてきた。しかし近年の測定技術の進歩により哺乳類を含む生体内に D 型アミノ酸が存在し既知の L 型アミノ酸バイオミクスにはない生理活性を有していることが明らかとなってきた。哺乳類で報告されているものの中では D-セリンと D-アスパラギン酸が著量に存在し、神経伝達などに関与することが明らかとなっている。しかしながら遊離型 D-グルタミン酸の存在やその代謝経路に関する報告は未だかつてない。

本研究では哺乳類の心臓において心不全状態で D-グルタミン酸シクラーゼの発現が減少し、D-グルタミン酸が蓄積することが初めて明らかとなった。D-グルタミン酸、5-オキソ-D-プロリンの生体内での生理活性には未だ不明な点が多く、D-グルタミン酸代謝制御の更なる研究により、心不全患者への早期介入や現在の治療法では限界に達しつつある重症心不全において、ミトコンドリアタンパク標的薬といった新たな治療法の開発に繋がることを期待される。