

| | |
|----------|---|
| 氏名 | とみくら ようこ 富倉陽子 |
| 学位の種類 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 甲第481号 |
| 学位授与年月日 | 平成16年 3月16日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 学位論文題目 | Coordinate induction of AMP deaminase in human atrium with mitochondrial DNA deletion (ミトコンドリア DNA 欠失に関連したヒト心房筋の AMP 分解亢進) |
| 学位論文審査委員 | (主査) 大野 耕 策 (副査) 應 儀 成 二 重政千秋 |

学位論文の内容の要旨

ミトコンドリアは電子伝達系で酸化的リン酸化を用いて ATP 合成を行うが、電子伝達系はミトコンドリアに存在するミトコンドリア DNA(mtDNA)によりコードされている。mtDNA 欠失により生じる様々なミトコンドリア筋症が報告されているが、これらの患者の骨格筋では酸化的リン酸化を担う mtDNA の一部領域の過剰な発現を認めるなど、エネルギー代謝異常を補う機構が存在することが報告されている。また、嫌気性代謝下で細胞は AMP を分解しエネルギーチャージを一定に保つことが知られている。しかしながら、mtDNA 欠失を有する組織での AMP 分解系の働きについては検討されていない。我々は近年ヒト心房筋に 7.4kb の mtDNA 欠失が生じその mtDNA 欠失の割合は 0.3~2.0%であり、さらにこの mtDNA 欠失を有する心房筋のアデニンヌクレオチド量は正常 mtDNA を持つ心房筋に比べて有意に減少していることを報告した。そこで今回の研究では、mtDNA 欠失を持つ心房筋における AMP の分解に関連する酵素である AMP deaminase の活性と cytosolic 5'-nucleotidase 活性について検討を行った。

方 法

開心術時に得られた右心耳を用いて、定性的および定量的 PCR 法により判定された 5 例の正常 mtDNA を有する心房筋と、全 mtDNA に対して 7.4kb の mtDNA 欠失を有する 5 例の心房筋を対象とし以下の検討を行った。アデニンヌクレオチド量 (ATP、ADP、AMP、総アデニンヌクレオチド量) を HPLC 法にて測定し、AMP deaminase 活性を特異的抗体を用いた免疫沈降法にて検討した。また cytosolic 5'-nucleotidase 活性について western blott 法を用いて検討した。

結 果

7.4 kb の mtDNA 欠失を有する 5 例において、その全 mtDNA に対する mtDNA 欠失の割合は 0.3~2.0%であった。これら mtDNA 欠失を有する群と正常群との間には血行学的に有意差を認めなかつ

た。mtDNA 欠失を有する群では正常群に比べ ATP、ADP、AMP、総アデニンヌクレオチド量が有意に低下し、さらに mtDNA 欠失を有する群では全 AMPD 活性およびそのアイソザイムである AMPD2 および AMPD3 酵素活性の有意な上昇を認めた。一方、cytosolic 5'-nucleotidase 活性については両群間で有意差を認めなかった。

考 察

7.4 kb の mtDNA 欠失を有するヒト右心房筋では、AMP をはじめとするアデニンヌクレオチド量が有意に低下し、また AMPD 酵素活性とそのアイソザイムである AMPD2、AMPD3 酵素活性が有意に上昇していた。このことは mtDNA 欠失と関連した細胞内 AMPD 活性の亢進により、AMP が IMP へと分解され続けていることを示唆する。一般的に、嫌気性代謝下で AMP から分解し生じた IMP は、プリンヌクレオチド回路により再び AMP へと回収されるが、ミトコンドリア機能の低下した条件下ではプリンヌクレオチド回路が破綻し、IMP が蓄積されることが報告されている。今回の結果から、心房筋での mtDNA 欠失は嫌気性代謝により ATP 合成を抑制するのみならず、アデニンヌクレオチドの回収を阻害した状態で AMPD 活性を亢進させ、アデニンヌクレオチドの減少を惹起することが考えられる。ミトコンドリア変異により生じるあらゆるミトコンドリア脳筋症の骨格筋においては、そのエネルギー代謝異常を補うべく mtDNA と核 DNA の一部領域の mRNA レベルでの転写活性亢進が認められている。また、ミトコンドリア脳筋症では正常 mtDNA と異常 mtDNA が同じ細胞に共存するヘテロプラスミーという病態のため、特有な症状を呈するには十分に大きな割合の mtDNA 遺伝子異常を持つ必要があるが、従来より報告されている mtDNA 欠失量のみで組織のエネルギー代謝異常が惹起されるかは疑問が残る。今回認めた mtDNA 欠失と連動する AMP 分解酵素の過剰な活性化は、心房筋のアデニンヌクレオチド枯渇に重要な役割を果たすのみならず、心房筋のエネルギー代謝異常を説明する新たな生化学的機構と考えられる。

結 論

心房筋における AMPD 活性の亢進は mtDNA 欠失と連動した心房筋のアデニンヌクレオチドの枯渇に関与する可能性がある。このアデニンヌクレオチドの枯渇は心房細動の発症に関連している可能性がある。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は mtDNA 欠失に関連したヒト心房筋の AMP 分解亢進について分子生化学的に検討したものである。その結果、7.4kb の mtDNA 欠失を有する心房筋においては ATP、ADP、AMP、総アデニンヌクレオチド量が有意に低下し、さらに AMP 分解系酵素である AMPD 酵素活性とそのアイソザイムである AMPD2、AMPD3 酵素活性が有意に上昇していた。このことは心房筋のアデニンヌクレオチドの枯渇に重要な役割を果たすのみならず、心房筋のエネルギー代謝異常を説明する新たな生化学的機構を示した。本論文の内容は、心房筋のエネルギー代謝の解明に大きく寄与するものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認められる。