



Title	神経系における硫化水素産生機序の解明〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	宮本, 亮
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11741号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59317
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryo_Miyamoto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：宮本 亮

学位論文題名

神経系における硫化水素産生機序の解明

硫化水素 (H_2S) は環境中に存在する特有の腐卵臭をもつ有毒ガスとして知られてきた。しかし H_2S は、哺乳動物の組織でも腸内細菌によって産生される他に、含硫アミノ酸代謝の過程で酵素反応によって生成される。1996 年に、 H_2S が N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体活性を増強することがラット海馬で示されて以来、 H_2S の生体内機能について多くの研究が行われてきた。 H_2S は高濃度では細胞死を惹起するなど毒性を示す。一方、低濃度では抗酸化作用や抗炎症作用を示すことが多くの組織で明らかにされてきており、内因性 H_2S が哺乳動物組織の生理・病態生理に深く関与している可能性がある。 H_2S はアミノ酸の L-cysteine から、3 種類の酵素反応、すなわち cystathionine γ -lyase (CSE)、cystathionine β -synthase (CBS) および cysteine aminotransferase (CAT) と mercaptopyruvate sulfurtransferase (MPST) の共役により産生されることが知られている。しかし、これらの酵素の組織分布や酵素活性調節機構はほとんど明らかにされていない。本研究では末梢と中枢神経系それぞれの H_2S 産生機構について検討をした。

まず一次知覚神経の細胞体が存在する脊髄後根神経節 (DRG) および末梢神経モデル細胞株の PC12 細胞を用い、末梢神経系の H_2S 産生に対する 3 種類の酵素経路の関与について比較検討した。DRG と PC12 細胞では CAT と MPST は発現していたが、CSE は発現しておらず、CBS の発現量は低かった。DRG と PC12 細胞は CAT の共基質である α -ketoglutarate 存在下においてのみ L-cysteine から相当量の H_2S を産生し、この H_2S 産生は、MPST の酵素反応を増強する dithiothreitol などの還元物質により増加した。DRG ニューロンと PC12 細胞では MPST の多くがミトコンドリアに存在していた。また CAT と MPST を介した H_2S 産生はミトコンドリア pH とされる pH 8.0 で高い H_2S 産生活性を示し、アルカリ化によりさらに増加した。以上の結果から、末梢神経系では CSE や CBS ではなく主に CAT と MPST を介して H_2S が生じること、またその H_2S 産生が還元物質濃度や pH 等により変化することが示された。これらの知見はミトコンドリア内の環境変化が末梢神経系の H_2S 産生に影響を与えることを示唆している。

中枢神経系ではこれまでアストロサイトに発現する CBS が主要な H_2S 産生酵素と考えられていた。しかし新生ラット脊髄からアストロサイトを分離培養し CBS の H_2S 産生活性を測定したところ、その活性は脊髄組織に比べて著しく低かった。そこで本研究では、アストロサイト CBS 発現を調節する因子について調べた。脊髄切片を用いた免疫蛍光解析により、CBS のアストロサイトへの局在が認められた。新生ラット脊髄組織からアストロサイトを分離培養する過程で、アストロサイト数の増加とニューロン数の減少が認められ、こ

れに伴い CBS の発現量は顕著に減少した。培養下でもニューロン数が減少しない胎児脊髄を用いて検討したところ、胎児脊髄組織では CBS 発現量は低かったが、胎児脊髄から作製したニューロン／アストロサイト混合培養系では CBS 発現量と H_2S 産生活性は培養日数に従って増加した。また新生児培養アストロサイト上に胎児ニューロンを播種したところ、アストロサイトの CBS 発現が回復した。さらに培養アストロサイトに膜透過性 cAMP である dibutyl cAMP (dbcAMP) を処置したところ、CBS 発現量と H_2S 産生活性は脊髄組織と同程度まで回復した。以上より、中枢神経系では、アストロサイトの CBS 発現がニューロンにより調節されること、さらにアストロサイトの cAMP 上昇がこの調節に関与していることが示唆された。

本研究は神経系の内因性 H_2S 産生が、細胞内外の因子に影響されることを示した。 H_2S は高濃度では細胞毒性を示す一方、低濃度では細胞保護作用を示すことが報告されている。そのため本研究が示唆した H_2S 産生効率の変化が、神経系の生理・病態生理に関与している可能性がある。