

申請者	学科名	栄養学科	職名	教授	氏名	木本 眞順美 印
調査研究課題	翻訳後修飾アミノ酸の代謝制御系がもたらす病態生理的役割に関する研究					
交付決定額	100万円					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	木本眞順美	保健福祉学部・教授	代謝生化学 分子栄養学	<ul style="list-style-type: none"> 研究総括 組換え型タンパク質の作製 メチル化されたアルギニン残基の同定 	
	分担者	山本登志子 鈴木麻希子	保健福祉学部・准教授 保健福祉学部・助教	細胞生物学 病態栄養学	<ul style="list-style-type: none"> 免疫組織学的解析 老化モデルマウスにおける解析 	
調査研究実績の概要	<p>【研究の目的】</p> <p>翻訳後修飾によって産生されるN^G, N^G-dimethylarginine (asymmetric dimethylarginine : ADMA) の消長が様々な病気の発症ならびに進展因子として働くことが明らかにされつつある。たとえば、ヒストンや核内タンパク質のアルギニンメチル化はエピジェネティックな制御機構に深く関係し、癌や生活習慣病の発症に係っていることが示されている。一方、遊離型ADMA (NO産生系の内因性阻害剤となる) の体内レベルの上昇は、動脈硬化症の新規リスクファクターとされ、その治療や予防法の開発のために、ADMAの体内レベルをいかに低下させるかが課題となっている。しかし、未だ病気の予防に役立つ具体策の確立には至っていない。多くの研究者はADMAの分解系にのみ焦点をあて、解析を進めているが、それが盲点となっていることが考えられる。我々は、ADMA代謝系と様々な病態の関わりを長年追究してきた研究過程において、①中枢神経系ならびに膵臓にはADMAの代謝系が豊かに備わっていること、②脳神経細胞の分化制御や神経繊維腫にADMA分解酵素であるDDAHの関与が示唆される結果を得ている。したがって、本研究においては、まず、これら組織におけるADMA代謝系の生理学的役割を理解し、NO産生障害がもたらす病態の発症機構を明らかにするため、網羅的な組織細胞学的解析によるADMA産生ならびに分解酵素類の組織内発現細胞の同定を目的とする。</p>					

<p>調査研究実績の概要</p>	<p>【結果・考察】</p> <p>1. ラット脳におけるPRMT1(タンパク質分子上のアルギニン残基をメチル化してADMAを産生する主要な酵素)、DDAH1およびnNOSの免疫組織化学的解析</p> <p>PRMT1およびnNOS陽性細胞が脳の各領域において広く確認された。一方、DDAH1陽性細胞は大脳皮質、海馬、視床、視床下部、小脳、延髄、橋に局在した。PRMT1は蛍光二重染色により、nNOS陽性細胞中に存在する割合が各領域において高く、その割合は脳の領域によって異なり、特に視床では完全な共存を認めた。これらの結果から、脳の広い領域のnNOS発現細胞において、ADMA含有タンパク質の産生が活発に行われていることが推察される。実際に我々は脳の広い領域に発現しているADMA含有タンパク質としてfructose biphosphate aldolase Cを同定した。また、nNOS陽性細胞中におけるDDAH1の割合は、大脳皮質、視床において高いことが示された。このことは、特に大脳皮質や視床において、DDAH1がnNOS発現細胞に共発現していることを裏付けるものであり、これらの脳領域においては、PRMT1とDDAH1の酵素連関とそれによるNO産生調節が示唆された。以上の結果から、PRMT/DDAH/NOS axisが脳機能の恒常性維持に重要な役割を果たしていることが考えられる。</p> <p>一方、PRMT1陽性細胞は上丘や橋、視床などのnNOS陽性細胞が観察されなかった領域に、そしてDDAH1陽性細胞は海馬や終脳の一部でnNOS陽性細胞が観察されなかった領域にも分布していたことから、ADMAの産生・分解過程は、脳の領域によってはNO産生に依存しない生理機能を担っていることが推察された。</p> <p>2. ラット膵臓におけるPRMT1およびDDAH1の免疫組織化学的解析</p> <p>PRMT1の発現が膵島に、DDAH1の発現が外分泌部に明確に観察された。さらに、膵島の約80%の細胞にPRMT1の発現が観察され、そのうち約65%がインスリン陽性細胞との共存、約20%がグルカゴン陽性細胞との共存、残りの約15%はPRMT1単独で発現していることが確認された。このように、膵臓におけるPRMT1とDDAH1の異所性が意味するところはまったく不明であるが、とても興味ある事実として今後の研究の進展が期待できる。</p> <p>3. ラット組織におけるADMA含有タンパク質の網羅的検索と同定</p> <p>ウエスタンブロット解析の結果、脳や膵臓をはじめ多くの組織において存在するADMA含有タンパク質として40S ribosomal protein subunit 2 (RPS2)を同定した。本タンパク質は、40S リボソームを構成するペプチドの一つであることから、本結果は、体内におけるADMA濃度の制御システム研究に新しい視点を提供するものと考えられる。</p>
<p>成果資料目録</p>	<p>1. Kimoto M, Hatakenaka H, Suzuki-Yamamoto T, Suzuki M, Ito A, Yokoro M, Yamashita H, Takahashi Y. Proteomic analysis of arginine methylated proteins in rat brain. IUNS 20th International Congress of Nutrition. Granada, Spain, Sep 15-20, 2013.</p> <p>2. 森本亮祐, 大森由香子, 鈴木麻希子, 野村奈央, 山本登志子, 山下広美, 高橋吉孝, 木本眞順美. ラット組織におけるアルギニンメチル化タンパク質の検索と同定. 第46回日本栄養・食糧学会中国四国支部大会, 平成25年11月16, 17日, 山口県立大学</p>