

氏名(本籍)	きくしま 菊島	まこと 真(山梨県)
学位の種類	博士(医学)	
学位記番号	博甲第3231号	
学位授与年月日	平成15年3月25日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
審査研究科	医学研究科	
学位論文題目	水銀化合物との相互作用によるアルギナーゼ分子種の変化とそれに起因する機能障害	
主査	筑波大学教授	医学博士 庄司進一
副査	筑波大学併任教授 (国立環境研究所 上席研究官)	理学博士 小林隆弘
副査	筑波大学助教授	医学博士 永瀬宗重
副査	筑波大学助教授	薬学博士 田中榮之介

論文の内容の要旨

(目的)

水銀毒性機構解明のため、1) アルギナーゼIがメチル水銀と反応し不溶化するかを検討し、他に不溶化するタンパクを単離・精製する。2) 無機水銀による腎臓中アポトーシスの誘発に及ぼすアルギナーゼIIの役割を検討する。

(対象と方法)

1) ラット肝臓を用いて有機水銀により不溶化タンパクを精製・同定した。2) ラット腎臓およびヒト・アルギナーゼII高発現ブタ腎臓由来細胞を用いて無機水銀によるアポトーシス誘導を検索した。

(結果)

1) ラット肝臓のアルギナーゼIはメチル水銀により不溶化した。他にも不溶化タンパクとしては、ソルビトール・デハイドロゲナーゼ(SDH), グルタチオン-S トランスフェラーゼ(GST)- α , グルタチオン-S トランスフェラーゼ(GST)- μ であることが同定された。アルギナーゼIは分子内のSH基とメチル水銀が反応することで不溶化し、タンパクレベルで酵素活性が低下することが明らかとなった。2) 無機水銀処理によりラット腎臓中アルギナーゼIIの遺伝子発現低下を伴わないタンパクレベルでの活性低下ならびにアポトーシスの誘発が生じた。このアポトーシスの誘発はアルギナーゼII活性低下と高い相関を示した。ブタ腎臓由来細胞に無機水銀を曝露すると濃度依存的な細胞死ならびにアポトーシスの誘発が見られた。一方、ヒト・アルギナーゼII高発現ブタ腎臓由来細胞は無機水銀による細胞死およびアポトーシスの誘発を抑制した。

(考察)

メチル水銀はアルギナーゼI活性を低下させることが明らかとなった。この活性低下はメチル水銀とアルギナーゼI分子中SH基との反応による不溶化が示唆された。無機水銀処理によりラット腎臓中アルギナーゼIIのタンパクレベルでの活性低下がみられた。無機水銀処理によりアルギナーゼIIが蓄積する水銀分子とSH基を介して反応

し、不溶化することでタンパクレベルの減少が生じることが考えられた。アルギナーゼⅡ高発現細胞は無機水銀による細胞死およびアポトーシスの誘発を抑制したことからアルギナーゼⅡは水銀毒性耐性遺伝子であることが明らかとなった。以上のことから無機水銀処理により腎臓でみられるアポトーシス誘発は、抗アポトーシス因子アルギナーゼⅡと水銀との反応によって生じる本酵素の機能障害が関与している可能性が示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

水銀毒性機構解明の研究上、メチル水銀および無機水銀とアルギナーゼ分子種の関与を明らかにした。すなわちメチル水銀をラットに投与すると、肝臓中アルギナーゼⅠ活性のタンパクレベルでの活性低下が認められた。無機水銀投与により、ラットの腎臓におけるアポトーシス誘発とアルギナーゼⅡ活性低下との間に良好な相関関係が認められた。この水銀とアルギナーゼ分子種とアポトーシスの関連についての新しい視点を開いた点で評価される研究である。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。