

## 論文の要約

報告番号	(甲) 医第1420号 乙	氏名	Kim Soo Hyeon
学位論文題目	Age- and gender-dependent D-amino acid oxidase activity in mouse brain and peripheral tissues: implication for aging and neurodegeneration		
<p>論文の要約</p> <p>「背景」D-アミノ酸酸化酵素(DAO)はHans Krebsによって1935年に発見され、FAD(Flavin adenine dinucleotide)を補酵素として持つフラビン酵素であり、中性および塩基性のD-アミノ酸を基質とし、酸化的に分解することにより<math>\alpha</math>-ケト酸およびアンモニア、過酸化水素を生成する。哺乳動物において、DAOは興奮性アミノ酸受容体のサブタイプ(NMDA受容体)のコアゴニストとして作用する新規神経調節因子D-セリンの代謝分解を介して、グルタミン酸神経伝達の調節に関与していると想定されている。さらに、DAOの上昇とD-セリンの低下によるNMDA受容体の機能低下は統合失調症との関連が示唆され、また、DAOの発現活性低下が筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態悪化と関連づけられているなど、DAOが重要な治療ターゲットとして研究がおこなわれている。しかしながら、哺乳動物におけるDAOの発現および酵素活性と病態生理学的意義の解明については未だ明らかにされていない。</p> <p>「方法」我々は新たなDAO酵素活性評価法を開発し、正常マウスの様々な組織器官におけるDAO酵素活性の測定を行った。この方法はDAOによる過酸化水素(<math>H_2O_2</math>)の生成をペルオキシダーゼ(POD)の反応とカップリングさせて、4-アミノアンチピリンとアニリン系化合物(<i>N,N</i>-diethyl-<i>m</i>-toluidine)の酸化的縮合反応で生成するキノンジイミン色素の発色反応により測定する方法で、高感度であり簡便性が高い評価法でハイスループットにも適応可能である。さらに、本開発の評価法は、動物の各種組織器官を材料とする上で重要となる界面活性剤含有緩衝液による組織の可溶化を許容し、より高い感度・簡便性をもたらしている。この方法を用いて、若年マウス(6-7カ月齢計=16匹、雄=9匹/雌=7匹)と高齢マウス(14-15カ月齢計=12匹、雄=7匹/雌=5匹)のDAOの活性および発現量を調べた。</p> <p>「結果」測定の結果、腎臓、小脳、延髄、中脳、脊髄で顕著なDAO活性が検出され、新たに精巣上体に強いDAO酵素活性が存在することを発見した。さらに、DAO活性の高い組織を選び、年齢や性別によるDAO活性に変化がないか検討を行った。その結果、小脳と脊髄のDAO活性は若年マウスに比べて高齢マウスで著しく減少し、腎臓でのDAO活性は雄マウスより雌マウスで活性の低下が認められた。さらに、脊髄を頸椎、胸椎、腰椎領域に分けて年齢によるDAO活性とタンパク質発現量を観察したところ、若年マウスに比べて高齢マウスの胸椎や腰椎領域で大きな減少が見られた。この結果から、脊髄のDAO活性の低下が、ALSに見られるような神経変性と強い関連がある可能性が示唆された。次に、我々は新たに発見した雄マウスの精巣上体をより詳細に検討するため精巣上体を頭部、体部、尾部に分けてDAO活性とタンパク質発現量を観察すると、精巣上体の頭部領域に特に強いDAO活性および発現量が示された。この結果から、精巣に接続する精巣上体頭部に存在するDAOが、精巣および精液中のD-Serを含むD-アミノ酸の代謝において重要な役割を果たす可能性を提示できた。</p> <p>「まとめ」結論として、我々はマウスの脳と末梢組織におけるDAO活性の直接測定のための新規の方法の開発に成功した。本研究に基づいて示された各組織器官におけるDAO活性の重要な特徴は、各器官の機能的発達および性分化に関連している可能性を示唆していた。さらに、この研究は加齢と神経変性の病態生理学におけるDAOの役割への新しい考察を提供することができた。</p>			