

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	美藤 友博
審査委員	<p>主査 渡邊 文雄 (印)</p> <p>副査 河野 強 (印)</p> <p>副査 石川 孝博 (印)</p> <p>副査 澤 嘉弘 (印)</p> <p>副査 山地 亮一 (印)</p>
題目	<p>Mechanisms of Metabolic Disorders and Memory/Learning Dysfunction Induced by Vitamin B<sub>12</sub> Deficiency and Production of the Vitamin-Enriched Food for Preventing the Deficiency (ビタミンB<sub>12</sub>欠乏症による代謝異常症と記憶・学習障害の発症メカニズムの解明および欠乏症予防のためのビタミンB<sub>12</sub>強化食品の開発)</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>本研究は、ビタミン B<sub>12</sub>(B<sub>12</sub>) 欠乏症、特に神経障害の発症メカニズムを解明するために、ヒトのモデル生物である線虫 (<i>Caenorhabditis elegans</i>) を用いて B<sub>12</sub> 欠乏症モデルを調製した。線虫を B<sub>12</sub> 欠乏条件下で5世代(15日間)生育させた時、体内 B<sub>12</sub> 含量が低下すると共に B<sub>12</sub> 依存性酵素メチルマロン-CoA ムターゼ活性ならびにメチオニンシンターゼ活性が著しく減少し、B<sub>12</sub> 欠乏症の指標であるメチルマロン酸とホモシステイン(Hcy)が顕著に蓄積したことから、線虫が B<sub>12</sub> 欠乏状態であることが明らかになった。B<sub>12</sub> 欠乏線虫は著しい産卵数の減少と世代交代時間の増加を示し、B<sub>12</sub> 欠乏哺乳動物で報告されている不妊症や成長遅延と一致する結果を示した。これらの結果は、線虫が B<sub>12</sub> を生育必須因子として要求することをはじめて実証すると共に、線虫が新規な B<sub>12</sub> 欠乏症モデル生物として基礎医学の分野で活用できることを示した。また、申請者は新規な B<sub>12</sub> 酵素阻害剤(B<sub>12</sub> ドデシルアミン誘導体)を開発し、線虫を極めて短期間(3日間)に B<sub>12</sub> 欠乏状態へ誘導させることに成功した。B<sub>12</sub> ドデシルアミン誘導体は哺乳動物由来の培養細胞においても B<sub>12</sub> 酵素阻害剤として作用したことから、本化合物を用いることで動物細胞をも短期間に B<sub>12</sub> 欠乏状態にさせたことは注目に値する。</p> <p>B<sub>12</sub> 欠乏線虫を用いて B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の発症メカニズムを解明するために、申請者は B<sub>12</sub> 欠乏線虫で著しく蓄積される Hcy に着目した。Hcy はジスルフィド結合を形成する過程で H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> やスーパーオキシドアニオンラジカルなどの活性酸素種を発生させることが知られている。そこで、酸化ストレス関連のバイオマーカーを検討したところ、B<sub>12</sub> 欠乏線虫では活性酸素種や活性窒素種の生成に関与する NADPH 酸化酵素と一酸化窒素合成酵素の活性が著しく上昇し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> や一酸化窒素化合物の顕著な蓄積が示された。一方、還元型グルタチオンなどの抗酸化物質やスーパーオキシドディスムターゼなどの抗酸化酵素の活性が著しく減少していた。また、B<sub>12</sub> 欠乏線虫では酸化ストレス障害の指標である過酸化脂質やカルボニル化タンパク質が顕著に増加していた。以上の結果から、B<sub>12</sub> 欠乏による Hcy の蓄積が生体内のレドックス制御の破綻を誘発させ、極めて著しい酸化ストレス障害を引き起こすことをはじめて分子レベルで解明した。</p>	

申請者は線虫の記憶・学習能を評価した結果、B<sub>12</sub> 欠乏状態で線虫は著しく記憶・学習能が低下していた。また、抗酸化物質の添加により B<sub>12</sub> 欠乏線虫の記憶・学習能の低下が無添加の線虫の約 50%に抑制された。以上の結果から、B<sub>12</sub> 欠乏線虫で観察された記憶・学習能の低下は主として酸化ストレスに起因することを明らかにした。本研究結果は、ヒトにおいても抗酸化物質の積極的な摂取が B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の症状を顕著に緩和させる可能性を示唆している。

B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の酸化ストレス以外の発症要因を特定するために、申請者は B<sub>12</sub> 依存性酵素が関与するアミノ酸代謝に着目した。B<sub>12</sub> 欠乏ラット等で報告されている分岐鎖アミノ酸やメチオニンの代謝異常に加え、B<sub>12</sub> 欠乏線虫においてオルニチンの顕著な蓄積が新規に観察された。オルニチンは神経伝達関連物質ポリアミンの前駆体であることから、線虫体内のポリアミン量を測定したところ、B<sub>12</sub> 欠乏線虫ではスペルミジンが著しく減少していた。B<sub>12</sub> 欠乏線虫では、生体内のメチル化反応の基質であり、ポリアミン合成に必須である S-アデノシルメチオニンが顕著に減少しており、これがスペルミジンの低下の主要因であることを突き止めた。以上の結果より、B<sub>12</sub> 欠乏性神経障害の発症要因は生体内のレドックス制御の破綻のみならず、生体内メチル化反応の低下が神経細胞膜のリン脂質組成を変化させることで生じる神経伝達異常、また Hcy およびポリアミン代謝異常が記憶に関与する受容体の活性調節機構を攪乱することで学習機能を低下させるなど、複合的な要因が密接に関連することを明らかにしたことは特筆すべき研究成果である。

また、申請者は B<sub>12</sub> 欠乏症の高い発症率を示す菜食主義者と高齢者に焦点をあて、B<sub>12</sub> 欠乏症の発症を予防するために新規な B<sub>12</sub> 強化食品を開発した。植物工場で採用されている水耕栽培技術を用いて効率的な B<sub>12</sub> 強化野菜の調製法を検討した。作製した B<sub>12</sub> 強化野菜は遊離型 B<sub>12</sub> を含むことから高齢者で多発するタンパク質結合 B<sub>12</sub> 吸収不良症の対策として有効であると考えられる。

以上のことから本論文は、優れた学位論文として高く評価できると判定した。