

博士學位論文審査結果要旨

平成 30 年 2 月 22 日

研究科、専攻名 バイオ・情報メディア研究科 バイオニクス専攻

学位申請者氏名 永瀬 翠

論文題目 Methods for evaluating in vivo oxidative stress and damage: Application of centenarians and patients with post-cardiac arrest syndrome and amyotrophic lateral sclerosis

審査結果の要旨

平成30年2月13日に東京工科大学において、学位申請者 永瀬 翠の学位審査公開発表会が開催され、以下の要旨に示す博士論文に関する発表と関連する質疑応答が行われた。

本学位論文では、急性疾患である心停止後症候群 (PCAS) 患者、慢性疾患である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者、及び百寿者の酸化ストレス亢進を、血漿中酸化ストレスマーカーとして、全コエンザイムQ10 (CoQ10) 中の酸化型の割合 (%CoQ10)、組織の酸化傷害マーカーとして遊離脂肪酸 (FFA) とその組成に注目し、評価している。また脳脊髄液 (CSF) 中の%CoQ10を酸化ストレスマーカーとして用いるための、再現性の高い新規測定方法を確立し報告している。さらに、生体の恒常性を示す新規マーカーとして、血漿中全CoQ10量と総コレステロール量の比 (TQ10/TC) と、遊離コレステロール量 (FC) とコレステロールエステル量 (CE) の比 (FC/CE) を提唱し、超高齢者、PCAS患者、及びALS患者でこれらの数値が変動していることを見出している。以下にその内容を詳述する。

酸化ストレスとは生体内の酸化と抗酸化のバランスが崩れ前者に傾き、生体にとって好ましくない状態と定義されている。我々はこれまで、酸化ストレスマーカーとして血漿中 CoQ10 の酸化還元バランス、組織の酸化傷害マーカーとして血漿中 FFA の組成に注目し、分析法の確立と応用を行ってきた。還元型 CoQ10 は強い抗酸化能を持ち、酸化されると量論的に酸化型になる。よって、酸化ストレスの定義や還元型 CoQ10 の酸化に対する鋭敏性を考えると、血漿中の%CoQ10 は生体全身の酸化ストレスマーカーとして有用であると思われる。またその分析法もすでに確立している。一方で、CSF の%CoQ10 については不明であり、その分析法も確立していない。そこで本研究では、CSF 中の CoQ10 の酸化還元バランスの測定法を確立し、脳脊髄内の酸化ストレスの評価を可能にしている。

また、組織の酸化ストレスは血漿中の FFA の組成で評価できると考えている。生体膜中には非常に酸化されやすい高度不飽和脂肪酸 (PUFA) が多い。そのため組織が酸化傷害を受けると、PUFA が減少し細胞膜の流動性の低下が起こる。これを補うために飽和脂肪酸を1価不飽和脂肪酸に変換するステアシル CoA 不飽和化酵素によって、オレイン酸 (18:1) やパルミトオレイン酸 (16:1) が増加する。さらに酸化傷害が進むと細胞は死に至り、膜成分は加水分解され FFA として血中に放出されると考えられる。したがって、組織が酸化傷害を受けると血漿中の全 FFA 量は増加し、そのうちの PUFA の割合 (%PUFA) は減少し、16:1 や 18:1 の割合は増加すると考えられる。これまで当研究室では、これら2つの酸化ストレスマーカーを用いて、様々な疾病の酸化ストレスを評価してきた。そこで、本研究では PCAS 患者、ALS 患者、及び百寿者の血漿を分析し、%CoQ10、FFA の組成、またその他の抗酸化物質のレベル、FC や CE などの脂質を測定して、これらの病態における酸化ストレスを評価した。

PCAS 患者、ALS 患者、及び百寿者において、%CoQ10 が健常人に比べ有意に高いことから、酸化ストレスの亢進が示唆された。また、%PUFA が有意に低く、組織の酸化傷害も進行

していることが推察された。また、興味深い知見として、尿酸が PCAS 患者と ALS 患者で減少していることが分かった。尿酸は生体内でペルオキシナイトライト (ONOO⁻) のスカベンジャーとして作用すると考えられている。したがって、これらの疾病では ONOO⁻ の生成が予想される。さらに、ALS 患者では、エダラボンの投与によって病状の進行抑制効果と尿酸の減少抑制が見られた。エダラボンが尿酸の約 30 倍も高い ONOO⁻ との反応性を示すことを考えると、その作用機序は生体内での ONOO⁻ の消去であることが強く推察される。

また、血漿中の FC/CE の値に注目したところ、極めて興味深い知見が得られた。通常、FC と CE の比は、高比重リポタンパク質 (HDL) と共に肝臓から分泌されるレシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) という酵素によってコントロールされているが、健常人では FC/CE 値は 0.4 程度に維持されていることが分かった。しかし、PCAS 患者、ALS 患者、百寿者ではその値が有意に上昇し、LCAT 活性が低下していることが示唆された。このことから、これらの症例では肝機能が低下することが推察され、これらの疾患や高齢者に対して、酸化ストレスや肝機能低下に対する対策が必要であることが示唆された。さらに、PCAS 患者を生存群と死亡群に分けたところ、死亡群で FC と CE の有意な減少や FC/CE の有意な増加がみられた。このことから、救急救命などの臨床現場で FC/CE を臨床マーカーとしてリアルタイムでモニターすることは、救急患者の生存率向上に大きく寄与すると考えられ、今後の展開に興味をもたれる。

一方、血漿中の CoQ10 レベルを表す TQ10/TC についても重要な知見が得られた。過去の報告から、ヒトは加齢により臓器中の CoQ10 量が減少すること、一方で血漿中の CoQ10 レベルは加齢の影響を受けず、減少しないことが分かっている。しかし、今回の検討で、70 歳代までは従来の報告通り、有意な TQ10/TC の減少は見られなかったが、百寿者になると有意に減少することが明らかになった。加齢が極限まで亢進すると、血漿中 CoQ10 レベルも減少してしまうと考えられる。また、CoQ10 の輸送タンパク質であるプロサポシン (Psap) の血漿中濃度は 70 歳代から増加傾向にあり、百寿者では有意に増加していた。これまで、臓器中の CoQ10 量は加齢と共に減少するものの、血漿中 CoQ10 量は減少しないことは大きな謎であったが、ヒトは加齢による血中の CoQ10 減少を抑制するために Psap を分泌して、そのレベルを維持しようとしていることが推察された。このことは、血中の CoQ10 レベルの維持が生体にとって重要な意義を持つことを意味している。事実、敗血症モデルの動物に CoQ10 を投与して、血中の CoQ レベルを上昇させておくと生存率が有意に上昇することが報告されている。また、逆にパーキンソン病では TQ10/TC 値が有意に減少し、Psap レベルが有意に上昇していることも確かめられており、今後、種々の疾患などにおいて TQ10/TC 測定的重要性が増すと推察される。

ここまで議論してきたように、本論文では PCAS 患者、ALS 患者、及び百寿者の血漿を分析して、CoQ10 をはじめとする抗酸化物質、脂質としての FC と CE、CoQ10 輸送タンパク質である Psap のレベルを測定し、これらの症例と酸化ストレスとの関連性を示してきた。そして、生体の恒常性を示す新規マーカーとして FC/CE 及び TQ10/TC を提唱し、それらを測定することの重要性を提起している。以上の結果と考察はヒトにおける酸化ストレス評価に有用であり、臨床現場における治療方針の策定や、高齢化社会を迎える現代において、高齢者の健康維持及びクオリティオブライフの向上にも役立つと考えられる。

上記の研究に対する学位審査公開発表および応答は妥当なものであり、学力試験も合格と判定するに十分な結果であった。以上のことより、審査員会は本論文の著者に対して、博士 (工学) の学位を授与するための十分な学力と能力を有しているものと認める。

審査委員 主査

東京工科大学准教授 藤沢 章雄 印