

# 論文内容要旨

## 論文題目

The viability of primary hepatocytes is maintained under a low cysteine-glutathione redox state with a marked elevation in ophthalmic acid production

(システイン-グルタチオン系の機能低下状態でも初代培養肝細胞は生存し、オフタルミン酸が蓄積する)

所属部門： 分子疫学 部門

所属講座： 生化学・分子生物学 講座

氏名： 李 在勇

## 【内容要旨】

細胞の生存にとって、内部を還元的に保つことは極めて重要であり、酸化ストレスは酸化還元（レドックス）バランスを酸化に偏らせることで細胞を傷害し、それが各種病態の増悪要因となる。システインはレドックス制御の中心をなすアミノ酸であるが、遊離状態では毒性があるため、通常の細胞内濃度は低く保たれている。システインに代わりレドックス能の維持に働くのが、グルタミン酸・システイン・グリシンからなるトリペプチドのグルタチオンであり細胞内には mM レベルで存在している。システイン供給を断つ、あるいはグルタチオン合成を阻害することで、アポトーシスとは異なる鉄依存性の細胞死・フェロトーシスが誘導される。フェロトーシスでは過酸化脂質が増加して、それが細胞死の引き金となることから、酸化ストレス障害による細胞死の主要経路と考えられている。本研究では肝臓のシステイン-グルタチオン系の制御機構を明らかにすることを目的として、マウスのヘパトマ由来の Hepa 1-6 細胞とマウス肝臓より単離した初代培養肝細胞を用いてシステイン-グルタチオン系の役割について検討した。Hepa 1-6 細胞はシステインの欠乏により細胞死が急速に進行した。xCT 阻害剤の Erastin による細胞死の誘導・過酸化脂質の蓄積・過酸化脂質の消去剤である Ferrostatin-1 による細胞死の抑制、といった特徴に基づき、細胞はフェロトーシスにより死滅したと判断された。一方初代培養肝細胞はシステイン欠乏の影響をほとんど受けず、それどころか xCT 欠損肝細胞も野生型と同様に数日間にわたり生存していた。初代培養肝細胞ではメチオニン代謝系と連動して働くトランススルフィレーション経路でシステインが合成され、それがグルタチオン合成に用いられたと考えられる。実際にこの経路を形成する酵素タンパク質が初代培養肝細胞に多く発現しており、さらに、本経路の特異的阻害剤の投与でシステインならびにグルタチオン合成量が著しく低下したことは、この結論を支持する。一方で、トランススルフィレーション経路の過程でシステインと等モル生成する 2-オキシ酪酸を経て 2-アミノ酪酸が生成し、それからグルタチオン類似化合物のオフタルミン酸が合成される。興味深いことに、オフタルミン酸はグルタチオン合成能の低下した状態でより多く産生され、その量はグルタチオン量に匹敵する量であった。この結果は、オフタルミン酸が何らかの生理機能を担う可能性を示唆しているが、本研究ではその生理機能の解明までには至らず、今後の検討課題となっている。以上のように本研究では、肝細胞のシステイン供給系を明らかにし、システイン-グルタチオン系による細胞生存機構に関して新たな知見を得ており、博士（医科学）の学位に値すると判断した。

平成 30年 1月15 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名：李 在勇

論文題目：The viability of primary hepatocytes is maintained under a low cysteine-glutathione redox state with a marked elevation in ophthalmic acid production  
(システイン-グルタチオン系の機能低下状態でも初代培養肝細胞は生存し、  
オフタルミン酸が蓄積する)

審査委員：主審査委員 藤井 順逸

副審査委員 鈴木 民夫

副審査委員 中島 修



審査終了日：平成 30年 1月 12日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

細胞の生存にとって、内部を還元的に保つことは極めて重要であり、酸化ストレスは酸化還元(レドックス) バランスを酸化に偏らせることで細胞を傷害し、それが各種病態の増悪要因となる。システインはレドックス制御の中心をなすアミノ酸であるが、遊離状態では毒性があるため、通常の細胞内濃度は低く保たれている。システインに代わりレドックス能の維持に働くのが、グルタミン酸・システイン・グリシンからなるトリペプチドのグルタチオンであり細胞内には mM レベルで存在している。システイン供給を断つ、あるいはグルタチオン合成を阻害することで、アポトーシスとは異なる鉄依存性の細胞死・フェロトーシスが誘導される。フェロトーシスでは過酸化脂質が増加して、それが細胞死の引き金となることから、酸化ストレス障害による細胞死の主要経路と考えられている。本研究では肝臓のシステイン-グルタチオン系の制御機構を明らかにすることを目的として、マウスのヘパトマ由来の Hepa 1-6 細胞とマウス肝臓より単離した初代培養肝細胞を用いてシステイン-グルタチオン系の役割について検討した。

Hepa 1-6 細胞はシステインの欠乏により細胞死が急速に進行した。xCT 阻害剤の Erastin による細胞死の誘導・過酸化脂質の蓄積・過酸化脂質の消去剤である Ferrostatin-1 による細胞死の抑制、といった特徴に基づき、細胞はフェロトーシスにより死滅したと判断された。一方初代培養肝細胞はシステイン欠乏の影響をほとんど受けず、それどころか xCT 欠損肝細胞も野生型と同様に数日間におわり生存していた。初代培養肝細胞ではメチオニン代謝系と連動して働くトランススルフィレーション経路でシステインが合成され、それがグルタチオン合成に用いられたと考えられる。実際にこの経路を形成する酵素タンパク質が初代培養肝細胞に多く発現しており、さらに、本経路の特異的阻害剤の投与でシステインならびにグルタチオン合成量が著しく低下したことは、この結論を支持する。一方で、トランススルフィレーション経路の過程でシステインと等モル生成する 2-オキソ酪酸を経て 2-アミノ酪酸が生成し、それからグルタチオン類似化合物のオフタルミン酸が合成される。興味深いことに、オフタルミン酸はグルタチオン合成能の低下した状態でより多く産生され、その量はグルタチオン量に匹敵する量であった。この結果は、オフタルミン酸が何らかの生理機能を担う可能性を示唆しているが、本研究ではその生理機能の解明までには至らず、今後の検討課題となっている。以上のように本研究では、肝細胞のシステイン供給系を明らかにし、システイン-グルタチオン系による細胞生存機構に関して新たな知見を得ており、博士(医科学)の学位に値すると判断した。