

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成17年度採択分

平成20年 3月31日現在

研究課題名（和文）：ガス分子を介した新しい生体制御機構の学際的
アプローチによる解明と医学への応用
研究課題名（英文）：Biomedical Application of Gas Biology through
Multidisciplinary Approaches
研究代表者：末松 誠 (MAKOTO SUEMATSU)
慶應義塾大学医学部医化学教室 教授



推薦の観点：「創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究」

研究の概要：生体高分子の隙間に浸透し金属中心やアミノ酸残基に部位特異的に結合しその機能を調節できるガス分子による生体制御の生物学（Gas Biology）を推進し、ガス分子の生成・受容・分配に関わる主要標的分子を同定し、これらの分子機能の人為的制御法を確立することにより、代謝の酸素依存性が問題となる幹細胞生物学や病原微生物統御などの基礎医学研究、あるいは循環器疾患制御、救急蘇生学などの臨床医学研究での展開を果たすことを目的とする。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：一酸化炭素、ガスバイオロジー、酸素センサー、メタボローム、生体情報工学、構造生物学、グルタチオン、Hypoxia inducible factor

1. 研究開始当初の背景

細胞内外に分布する低分子化合物の生理的挙動や病態生化学は水分子や酵素など限られた分子種の理解は進んでいるものの包括的な理解は遅れている。In vitro での genomics, proteomics 技術では取得できない In vivo の酵素の酸化還元状態を反映させたメタボローム解析技術によるガス分子の作用点探索法を駆使して問題解決を図った。

2. 研究の目的

本研究では生体高分子の隙間に浸透し、低分子の官能基を認識して部位特異的に結合しその機能を調節できるガス分子による生体制御の生物学（Gas Biology）の推進を目指し、ガス分子の生成・受容・分配に関わる主要標的分子を同定する。その具体的手段として分子・細胞・臓器レベルの各階層で目的に応じて物理化学・構造生物学・生命情報科学、計算機科学を利用し、学際的な研究アプローチを積極的に導入して問題解決を図る。ガス分子の生物作用の人為的制御法を確立することにより、代謝の酸素依存性が問題となる幹細胞生物学や病原微生物統御などの基礎医学研究、あるいは循環器疾患制御、救急蘇生学などの臨床医学研究での展開を果たすことを目標とする。

3. 研究の方法

本研究は3つの柱：（1）メタボローム解析法により探索されたガス分子受容蛋白質と異なるガス分子との相互作用の構造生物学的解析とその生物学的意義の解明、（2）既知の低分子化合物がNOやH₂Sなどの反応性の高い分子と相互作用することにより新

たに生じる新規低分子化合物の探索とその生物学的意義の解明、（3）体内で細胞膜を自由に通過・移動すると考えられてきたガス分子が、イオンチャネルやキャリア低分子との複合体形成により生体内の特定のコンパートメントに分布し、生物活性を発揮する可能性の検証、から構成される。これらの視点から、hemoglobin (Hb)を酸素センサーとして短時間に活発な代謝リモデリングを行うことが明らかになった赤血球、heme oxygenaseのような酸素添加酵素をセンサー分子として巧妙な細胞機能制御を行っていると考えられる血管内皮細胞や炎症担当細胞（リンパ球、マクロファージ）、さらに体内で特異的なガス分子代謝環境にあると考えられる造血幹細胞、あるいはIn vivo で増殖を続けながらヘテロな酸素・ガス環境を構築して生存を図るがん細胞を対象として、ガス分子の生体内生成、受容、利用の分子機構を包括的に理解し、わずか数原子分子で構成されるガス分子群が生体内で精妙に識別され特異的に利用されるメカニズムを徹底的に解明することを目指す。

4. これまでの成果

CE-MS, LC-MS/MSなどを駆使した代謝物解析技術を元に結核菌の新規TCA回路の探索同定と新酵素の発見を果たした。またNOのバイオイメーキングを最新の脳微小循環の生体観察技術と組み合わせ3次元分布を示し、内因性のCOがNO生成を阻害し、細胞脈の緊張性制御分子として作用することを初めて明らかにした。また大規模代謝数値シミュレーションを開発し、低酸素時の赤血球代謝変動を予測、シミュレーション結果と

ヒト赤血球代謝物のメタボローム解析の齟齬から酸素センシングを行っている代謝系を予測し、これを *wet biology* で実証することに成功した。赤血球は微小血管通過の際に ATP の間断ない供給により変形能が担保されることにより速やかな酸素乖離が可能となること、あるいは解糖系の *branch pathway* から供給される 2,3-BPG がヘモグロビン (Hb) からの酸素乖離を促すことが知られている。一方 Hb は低酸素状態で T-state 構造が安定すると膜蛋白質で *chloride shift* を制御する Band III に結合することが知られていたがその生理的意義は不明であった。赤血球のような核・ミトコンドリアのない細胞ではあるが目的指向型に精緻化した大規模代謝シミュレーターが生命現象の予測に使用しうることを世界で初めて示した成果となった。

Cytochrome oxidase (CCO) は好氣的生物においては最も主要な分子状酸素の消費酵素である。動物の CCO は、ミトコンドリア内膜に埋もれた膜蛋白質複合体であり、呼吸鎖の末端酸化酵素として分子状酸素を水に還元する。本酵素は酸素消費に共役してマトリックスから膜間腔へプロトン能動輸送 (プロトンポンプ) するため内膜内側が負の膜電位が発生する。この膜電位・プロトン濃度勾配は ATP 合成酵素を介したプロトンの膜内再駆入されと ATP 合成に不可欠である。この反応による酸素消費は体内での酸素消費の 95%以上を占め、長年酸素センシングの候補分子と考えられてきた。医化学教室の島田らはこの問題を解決すべく CCO のプロトンポンプ活性が本酵素の酸素センシングの本態であると仮説を立て、その立証を果たすべく電子伝達系を介した酸素消費を変化させずにプロトンポンプ活性のみを欠失させた非共役呼吸状態の細胞の創出を果たした。プロトン駆出の生理的意義がこの実験系で明らかになると期待される。

5. 今後の計画

ストレス応答で体内に増加するガス分子である CO は腫瘍の *anoxic core* や脳虚血部位に集積する *microglia* に発現する *heme oxygenase-1* から生成される。脳、肝臓は CO, H₂S の濃度が恒常的に高い臓器であり、CO の構成型生成酵素である *heme oxygenase-2* が高発現していることも共通である。分担研究者の斎藤らの研究成果により本酵素反応プロセスの全貌が解明され、分子状酸素が *heme* の開裂をするプロセスが律速となっていることが判明した。したがって本酵素が酸素センサーとして働き、CO の体内濃度を調節することによって生体機能の制御に寄与する可能性を今後さらに検討していく予定である。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) (研究代表者は太字、研究分担者には下線)

Yukutake, Y., Tsuji, S., Hirano, Y., Adachi, T., Takahashi, T., Fujihara, K., Agre, P.,

Yasui, M., **Suematsu, M.** Mercury chloride decreases the water permeability of aquaporin-4-reconstituted proteoliposomes. *Biol. Cell* 2008, in press.

Matsui T, Omori K, Jin H, Ikeda-Saito M. Alkyl peroxides reveal the ring opening mechanism of verdoheme catalized by heme oxygenase. *J Am Chem Soc*, 130(13), 4220-4221, 2008

Shimokata K, Katayama Y, Murayama H, **Suematsu M**, Tsukihara T, Muramoto K, Yoshikawa S, Shimada H. A peptide bond provides unidirectional respiratory proton pumping in bovine cytochrome *c* oxidase. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(10), 4200-4205, 2007

Kinoshita, A., Tsukada, K., Soga, T., Hishiki, T., Ueno, Y., Nakayama, Y., Tomita, M., **Suematsu, M.** Roles of hemoglobin allostery in hypoxia-induced metabolic alterations in erythrocytes: simulation and its verification by metabolome analysis. *J Biol Chem* 282(14), 10731-10741, 2007.

Suganuma K, Tsukada K, Tsuneshige A, Kashiba M, Yonetani T, **Suematsu M.** T-state stabilization of hemoglobin allostery by nitric oxide: a protection against post-ischemic hepatobiliary dysfunction. *Antioxid Redox Signal* 8, 1847-1855, 2006

Soga T, Baran R, **Suematsu M**, Ueno Y, Ikeda S, Sakuragawa T, Kakazu Y, Ishikawa T, Robert M, Nishioka, T., Tomita, M. Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption. *J Biol Chem* 281(24) 16768-16776, 2006.

Tian J, Bryk R, Itoh M, **Suematsu, M**, Nathan C. Variant tricarboxylic acid cycle in *Mycobacterium tuberculosis*: Identification of α -ketoglutarate decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 102, 10670-10675, 2005.

Ishikawa M, Kajimura M, Adachi T, Maruyama K, Makino N, Goda N, Yamaguchi T, Sekizuka E, **Suematsu M.** Carbon monoxide from heme oxygenase-2 is a tonic regulator against nitric oxide-dependent vasodilatation in the adult rat cerebral microcirculation. *Circulation Research* 97(12), e104-e114, 2005.

ホームページ等
<http://www.gasbiology.com>