

氏名(本籍) 徐 洋(中国)  
学位の種類 博士(医学)  
学位記番号 博士第439号  
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当  
学位授与年月日 平成15年3月27日  
学位論文題目 Monoamine oxidase type B is localized to mitochondrial outer membranes in mast cells, Schwann cells, endothelial cells and fibroblasts of the rat tongue  
(ラット舌におけるB型モノアミン酸化酵素の局在)

審査委員 主査 教授 工藤 基  
副査 教授 遠井 育夫  
副査 教授 永田 啓

## 論文内容要旨

### 【目的】

モノアミン酸化酵素はモノアミンの酸化的脱アミノ反応を触媒し、その基質特異性と阻害剤感受性の違いにより2つのタイプに分類される。A型モノアミン酸化酵素(MAOA)は、ノルアドレナリンやセロトニンを基質とし、クロルジリンにより阻害される。B型モノアミン酸化酵素(MAOB)は、 $\beta$ -フェニルエチルアミンを基質とし、デプレニルで阻害される。ドーパミンはMAOAとMAOBの共通基質である。中枢神経系において、MAOAはカテコルアミンニューロンのミトコンドリア外膜に存在し、MAOBはセロトニンニューロン、ヒスタミンニューロンおよびグリア細胞のミトコンドリア外膜に存在している。カテコルアミンニューロンに存在するMAOAは、カテコルアミンによる神経伝達機能の不活性化に関与すると考えられている。中枢神経系におけるMAOBの機能は解明されていない。一方、中枢神経系以外の多くの器官において、MAOA活性およびMAOB活性は存在するが、その細胞レベルや細胞下レベルの局在は明らかにされていない。我々は、MAOBに対する特異的抗体を作成し、MAOB活性の存在が知られている舌において、MAOBの局在を免疫組織化学染色法と電子顕微鏡観察法を用いて明らかにし、その機能について考察した。

### 【方法】

体重180-200gの雄性Sprague-Dawleyラットを麻酔下に、パラホルムアルデヒド、グルタルアルデヒドおよびピクリン酸の混液で灌流固定した。舌を摘出し、さらにパラホルムアルデヒドとピクリン酸の混液で浸漬固定した。固定した舌の前額面、厚さ50 $\mu$ mの切片をマイクロスライサーで作成した。免疫組織化学染色は、ウサギ抗MAOB抗体、アビジン-ビオチン-ペロキシダーゼ複合体および色素としてジアミノベンジデンを用いて行った。染色した切片をさらに酸化オスミウムで処理し、脱水の後、エポンで包埋した。エポンで包埋した切片を光学顕微鏡で観察し、免疫反応産物のある部位を切り出し、その超薄切片を作成した。超薄切片を酢酸ウランと鉛の染色液で処理した後、透過型電子顕微鏡で観察した。

### 【結果】

光学顕微鏡下において、MAOB免疫反応産物は舌の結合組織に存在し、上皮や筋組織には認められなかった。

電子顕微鏡による観察では、MAOB免疫反応産物は肥満細胞、シュワン細胞、内皮細胞および線維芽細胞において、それぞれのミトコンドリア外膜とその周囲の細胞質に認められた。

## 【考 察】

電子顕微鏡による観察において、MAOB免疫反応産物はミトコンドリア外膜とその周囲の細胞質に認められた。我々の用いた免疫組織化学染色法の陽性シグナルは、ペロキシダーゼによるジアミノベンジチンの酸化反応産物である。ペロキシダーゼを用いる免疫組織化学染色法では、ジアミノベンジチンの酸化反応産物は電子顕微鏡下において、抗原の存在部位から拡散する傾向のあることが知られている。よって、MAOBの存在部位は主としてミトコンドリア外膜であり、周囲の細胞質に見られる反応産物はミトコンドリア外膜から拡散したものであると考えられる。

肥満細胞のミトコンドリア外膜に存在するMAOBの生理的基質の一つとして、メチルヒスタミンが考えられる。肥満細胞はヒスタミンを合成し、顆粒に蓄蔵する。肥満細胞は、組織障害やアレルギー反応によって、脱顆粒（ヒスタミン放出）する。ヒスタミンの分解経路の一つとして、ヒスタミンメチル転移酵素とMAOBによるものが知られている。すなわち、ヒスタミンメチル転移酵素によってヒスタミンがメチルヒスタミンになり、さらにメチルヒスタミンがMAOBによって酸化的脱アミノされる経路である。ラット腹膜の肥満細胞において、ヒスタミンメチル転移酵素は検出されないが、メチルヒスタミンはその顆粒に存在し細胞質には認められないという報告がある。またモルモットの舌上皮にヒスタミンメチル転移酵素が存在するという報告もある。以上のことから、舌の結合組織に存在する肥満細胞からヒスタミンが放出され、放出されたヒスタミンは上皮に存在するヒスタミンメチル転移酵素によってメチルヒスタミンになり、さらにメチルヒスタミンは肥満細胞に取り込まれ、その一部はミトコンドリア外膜にあるMAOBによって分解され、他のメチルヒスタミンは顆粒に取り込まれることが示唆される。

脳血管に存在するMAOB活性は、神経毒性を持つ外来性モノアミンである1-メチル-4-フェニル-1, 2, 5, 6-テトラヒドロピリジンを分解し、脳組織を防御するという報告がある。同様に、舌の毛細血管内皮細胞のミトコンドリア外膜に存在するMAOBは、毒性を持つ外来性モノアミンを解毒することが示唆される。

シュワン細胞や線維芽細胞のミトコンドリア外膜に存在するMAOBの機能として、内在性または外来性モノアミンの代謝に関与することが考えられる。

## 【結 論】

- 1 ラット舌の肥満細胞、シュワン細胞、毛細血管内皮細胞および線維芽細胞のミトコンドリア外膜にMAOBが存在することを明らかにした。
- 2 これらの細胞に存在するMAOBは内在性または外来性モノアミンの代謝に関与することが考えられる。

## 学 位 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

モノアミン酸化酵素は酸化の脱アミン反応を触媒し、その基質特異性と阻害剤感受性の違いにより、A型モノアミン酸化酵素（Monoamine oxidase type A; MAOA）とB型モノアミン酸化酵素（Monoamine oxidase type B; MAOB）2タイプに分類される。現在、中枢神経系以外のモノアミン酸化酵素の細胞内局在は不明である。本研究はMAOBに対する特異的抗体を作成し、MAOB活性の存在が知られている舌において、MAOBの局在を免疫組織化学染色法と電子顕微鏡観察法で検討した。その結果、ラット舌の肥満細胞、シュワン細胞、内皮細胞およびファイブロブラストのミトコンドリア外膜にMAOBが存在することを明らかにした。

本研究は中枢神経系以外の組織において、電子顕微鏡を用いてMAOBの細胞局在を初めて明らかにしたものであり、博士（医学）の学位授与に値するものと認める。