

審査の結果の要旨

氏名 守田 麻由子

守田麻由子は「リゾホスファチジルコリンに対する血管内皮細胞の新規応答機構」をテーマとし、リゾホスファチジルコリン (LysoPC) の分子種による細胞の応答性のちがいにも注目して、ヒト血管内皮細胞の新規応答機構の解明を目指して研究をおこなった。

パルミチン酸が結合した 16:0LysoPC とステアリン酸が結合した 18:0LysoPC それぞれの、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)における、 Ca^{2+} の細胞内への取り込み、活性酸素の産生、そして MAP kinase (ERK, JNK, p38)のリン酸化への影響を調べ、いずれの LysoPC も一過性の応答を導くことを明らかにした。守田は詳細なタイムコース検討を行なうことにより、LysoPC の分子種によるちがいとして、16:0LysoPC に比べて 18:0LysoPC に対する細胞の応答は時間的に遅く起こることを見出した。

16:0LysoPC と 18:0LysoPC に対する HUVEC の遺伝子発現応答について、DNA マイクロアレイを用いて調べ、2種類の LysoPC は上記の細胞応答にみられたと同様に、ほぼ等しく HUVEC の遺伝子発現の誘導および抑制を導くことを明らかにした。遺伝子発現の変動もやはり 18:0LysoPC による刺激では遅く起こることも示した。さらに、新たな発見として、当初 LysoPC の受容体と報告されていた (後に取り下げられた) GPR4 を siRNA によりノックダウンした場合の、16:0LysoPC と 18:0LysoPC による HUVEC の遺伝子発現応答に対する影響を DNA マイクロアレイを用いて調べ、18:0LysoPC による発現誘導のみ抑制される遺伝子5つをみつけた。この結果については、実験を繰り返し、リアルタイム PCR 法を用いて、DNA マイクロアレイで得られたデータを慎重に確認した。論文作成期間にメカニズムにまで言及することはできなかったが、守田がここに示した結果は、LysoPC による HUVEC の遺伝子発現に、GPR4 が関与する経路が存在すること、同じ遺伝子の発現が GPR4 関連経路を介する場合と介さない場合があること、また、16:0LysoPC と 18:0LysoPC という化学構造のわずかなちがいによって遺伝子発現に至る経路が異なる場合があること、など新規な知見を提示している。

博士課程において守田が明らかにしたもうひとつの LysoPC に対する細胞の新規応答機構は、LysoPC によって HUVEC のコレステロールが引き抜かれ、培養液中に放出されることにより、コレステロール低下が感知された細胞内で、コレステロール合成や脂質代謝に関する遺伝子を制御している転写因子 SREBP-2 が活性化し、膜から核へ移行する結果、SREBP-2 制御下の一連の遺伝子発現が誘導されることである。この現象は 16:0LysoPC、18:0LysoPC 共通にみられることを示した。守田は細胞の膜面分と核面分を厳密に分離し、SREBP-2 の抗体を用いて、LysoPC による刺激後経時的に SREBP-2 の precursor form が膜から mature form として核へ移行することを明確に示した。これまで LysoPC による SREBP-2 活性化についての報告はなく、新規な発見であることに加え、そのメカニズムについても

明らかにした功績は大きい。

以上、守田は本審査において、LysoPC の分子種による細胞の応答の違いについて詳細に検討することにより、時間的なちがいとどまるもの、質的に異なるものなどを明らかにし、また、分子種共通な LysoPC としての新規な細胞応答誘導能をそのメカニズムとともに提示することができた。

よって本論文は博士（工学）の学位論文として合格と認められる。