

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 牧野 麻美

---

特定の脂質を標的とするタンパク質、ペプチド、低分子物質は脂質の分布、動態を知るだけでなく、脂質の機能を知る上でも重要な道具である。しかしこのような物質の報告は少なく、これらの物質の脂質との相互作用の詳細な解析、また新たな脂質との相互作用の発見は重要な意味を持っている。本論文はホスファチジルエタノールアミンを認識するペプチド、シンナマイシンの作用機序、スフィンゴミエリンに特異的に結合するタンパク質、ライセニンの詳細な解析、および糖脂質合成阻害剤 D-PDMP のエンドソーム特異的脂質ビス (モノアシルグリセロ) リン酸 (BMP) との相互作用の発見とそれを用いた BMP のコレステロール代謝における機能の記述を行ったもので、三章から成っている。

第一章では放線菌 *Streptoverticillium griseoverticillatam* が産生する 19 アミノ酸からなるテトラサイクリックペプチド、シンナマイシンが標的細胞膜の脂質二重層内層の脂質を外層に移行させる、脂質のフロップを引き起こすことを示した。シンナマイシンによって引き起こされる脂質のフロップは人工膜においても観察され、脂質のフロップはシンナマイシン自身の作用によるものであることが示された。人工膜の実験によりシンナマイシンが脂質のフロップを誘導するためにはホスファチジルエタノールアミンが必要であることが示された。これらの結果により、細胞膜外層に極微量存在するホスファチジルエタノールアミンにシンナマイシンが結合することにより、内層に大量に存在するホスファチジルエタノールアミンが外層に露出し、その結果大量にシンナマイシンが細胞に結合し、細胞は死に至る、というシンナマイシンの作用機序が明らかになった。さらにシンナマイシン処理により膜の構造が著しく変形することを電子顕微鏡観察により示した。

第二章ではシマミミズ *Eisenia foetida* が産生する 297 アミノ酸からなるタンパク質、ライセニン、および、それぞれライセニンとの相同性 76 %、類似性 88 %、また相同性 89 %、類似性 94 % である LRP-1(lysenin2)と LRP-2(lysenin3)について組み換えタンパク質と種々の変異体を作製し、これらのタンパク質のスフィンゴミエリンへの結合および溶血活性にはライセニンの 210 番目のフェニルアラニンが重要な役割を果たしていることを示した。またライセニンの 6 個のトリプトファンを各々アラニンに置換した変異体の解析から、ライセニン、LRP-1 および LRP-2 の間で保存されているトリプトファンはライセニンの活性に必要なであることを示した。

第三章ではこれまで糖脂質合成阻害剤とされていた *D-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol* (D-PDMP)が後期エンドソームに蓄積し、エンドソーム特異的脂質、ビス(モノアシルグリセロ)リン酸(BMP)がつくる高次構造を変化させることを示した。また BMP がコレステロールエステルの分解に関与する酸性リパーゼを著しく活性化させることを初めて明らかにし、D-PDMP が BMP によるリパーゼ活性の亢進を阻害することを示した。さらにこのリパーゼ活性の阻害により後期エンドソームにコレステロールエステルが蓄積し、コレステロールが生成しないために形質膜のコレステロールの低下、小胞体でのコレステロールのエステル化が阻害されることを示した。形質膜でのコレステロールの低下は形質膜に存在する抗がん剤のくみ出しを触媒する P-糖蛋白質の活性を抑え、それにより抗がん剤の細胞への取り込みが上昇することを示し、D-PDMP による多剤耐性がん細胞の抗がん剤への感受性への増大は、糖脂質合成の阻害ではなく、BMP の機能の阻害の結果起こることを明らかにした。

以上、本論文は特異的な脂質に作用するシンナマイシン、ライセニン、および D-PDMP の作用機序を明らかにすると共に、エンドソーム特異的脂質、BMP の新たな機能を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。