




学位論文審査の結果の要旨

平成 31 年 2 月 5 日

審査委員	主 査	中村隆範 		
	副主査	藤原祐一郎 		
	副主査	桑原知巳 		
願 出 者	専攻	分子情報制御医学	分野	分子細胞医学
	学籍 番号	15D739	氏名	Smriti Sultana Binte Mustafiz
論 文 題 目	The role of intracellular anionic phospholipids in the production of N-acyl-phosphatidylethanolamines by cytosolic phospholipase A ₂ ε			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔 要 旨 〕

本論文に関する学位論文審査委員会は平成31年2月5日に行われた。

N-アシルホスファチジルエタノールアミン (NAPE) は生体膜を構成する微量リン脂質であり、脂質メディエーターとして知られる N-アシルエタノールアミンの前駆体として機能する。NAPEはグリセロリン脂質のアシル基をホスファチジルエタノールアミンのアミノ基に転移する N-アシル転移酵素によって合成されるが、細胞質型ホスホリパーゼ A₂ε (cPLA₂ε) は Ca²⁺依存的に同活性を示す酵素として同定された。申請者の所属研究室では cPLA₂ε が酸性リン脂質であるホスファチジルセリン (PS) によって活性化されることを *in vitro* で報告していたが、細胞内においても同様に制御されるかは不明であった。そこで本研究では、PS を含む種々の酸性リン脂質の cPLA₂ε に対する効果について細胞レベルで検討を行った。まず、樹立した cPLA₂ε 安定発現細胞において PS 合成酵素の発現を siRNA によって抑制したところ、cPLA₂ε の細胞内含量は、抑制の程度に応じてタンパク質レベルで有意に減少した。また、共焦点レーザー顕微鏡で cPLA₂ε の局在を観察すると、コントロール siRNA で処理した細胞では形質膜や細胞内小胞に局在していたが、PS 合成を抑制した細胞では cPLA₂ε の細胞内小胞での局在は減少し、主に形質膜に局在していた。次に、cPLA₂ε の種々のドメイン欠損変異体を用いて酵素活性を測定したところ、Ca²⁺結合に関わる C2 ドメイン、活性中心であるセリン-412 を含むリパーゼドメイン、または複数の塩基性アミノ酸からなる多塩基性ドメインを欠損する変異体のすべてで

活性が消失していた。野生型cPLA₂εとは異なり、これらの変異体は細胞全体に存在していた。同様の結果はセリン-412の点変異体でも見られた。精製したcPLA₂εに対する種々の酸性リン脂質の効果を検討したところ、ホスファチジルイノシトール4,5-ビスリン酸やホスファチジン酸などはPSと同様にcPLA₂εの酵素活性を上昇させた。また、精製cPLA₂εはリポソームとCa²⁺依存的に結合したが、これらの酸性リン脂質を含むリポソームでは結合割合が酸性リン脂質を含まないリポソームよりも有意に高かった。以上の結果から、cPLA₂εは細胞内においてもPSによって制御される可能性、及びPS以外の酸性リン脂質も制御に関与する可能性が示された。

これらの成果はcPLA₂εの新たな制御機構を明らかにした点で学術的意義が高く、委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に値するものと判定した。

審査においては、

1. 種々のドメイン欠損変異体や点変異体で酵素活性や細胞内局在が変化するのは何故か。
2. *N*-アシル転移酵素活性の検出方法。
3. siRNAによってPS合成酵素の発現を抑制すると、細胞内の既存のPSは減少するか。
4. PS合成酵素の発現を複数のsiRNAで抑制したとき、抑制の程度に差があるのは何故か。
5. cPLA₂εの発現様式は誘導的か、それとも恒常的か。
6. リポソームとの結合実験でcPLA₂εの変異体を用いると、どのような結果になるか。
7. cPLA₂εの活性に対する酸性リン脂質の効果がリポソームの有無で異なるのは何故か。
8. タグを付加することでcPLA₂εの安定性は変化するか。

など、多数の質問がなされたが、申請者はいずれに対しても適切に回答し、博士（医学）の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲 載 誌 名	The Journal of Biochemistry		
(公表予定) 掲 載 年 月	2018年 12月	出版社（等）名	Oxford University Press

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。