

## 審査の結果の要旨

氏名 宮崎 セリーヌ

本研究はペルオキシソーム形成異常症の代表的疾患である Zellweger 症候群患者由来の脳、肝臓および線維芽細胞における脂質代謝変化を明らかにし、さらに糖脂質代謝変化に注目して、それが細胞の増殖や酸化ストレスへの耐性、および細胞接着などの諸機能へどのような影響をもたらすかを検討した研究であり、以下の結果を得ている。

1. 患者小脳組織では正常対照と比較して、鎖長の短い脂肪酸を有するスフィンゴミエリン量が増加していた。リン脂質のうち、フォスファチジルエタノールアミン (PE) が減少していた。また、エーテルリン脂質である PE 型プラスマロゲンが欠失することが確認された。肝臓ではエーテルリン脂質の種類が小脳と異なり、フォスファチジルコリン型プラスマロゲンが患者、正常対照共に検出された。
2. 患者小脳、大脳皮質、および線維芽細胞において糖脂質であるセラミドモノヘキシシドおよびガングリオシドが増加していた。
3. ペルオキシソーム形成異常によって引き起こされる脂肪酸β酸化障害やプラスマロゲン合成障害が糖脂質代謝変化へ影響するかどうかを明らかにするため、培養神経系細胞を用いてペルオキシソーム脂肪酸β酸化酵素である *ACOX1* とプラスマロゲン合成酵素である *GNPAT* の RNAi を行った。神経細胞 F3-Ngn1 では *ACOX1* および *GNPAT* のノックダウンによって糖脂質代謝の最初のステップに位置するグルコース転移酵素 *UGCG* の mRNA 発現は抑制され、ガラクトース転移酵素である *UGT8* の mRNA 発現は促進された。糖脂質は細胞アポトーシスシグナルとして働くセラミドと糖が *UGCG* や *UGT8* の作用で合成されるため、*ACOX1* および *GNPAT* のノックダウンによって細胞内のセラミドを介した糖脂質代謝変化が起る可能性が考えられた。
4. ペルオキシソーム形成異常症の病態と糖脂質代謝変化の関連を検討するため、

ペルオキシソーム欠損細胞 (Z65) と糖転移酵素阻害剤 D-PDMP を用いて細胞増殖、過酸化水素による酸化ストレスへの耐性および細胞接着を検討した。これまでの研究で Z65 では対照細胞である CHO-K1 と比較し、糖脂質が蓄積することが判明している。D-PDMP 処理によって Z65 では糖脂質のグルコシルセラミドおよびガングリオシドが減少し、細胞増殖が抑制された。D-PDMP の異性体である L-PDMP は糖転移酵素阻害作用がなく、Z65 を L-PDMP 処理した場合は糖脂質の減少はなかった。D-PDMP 処理された Z65 では対照細胞 CHO-K1 と比較し、より低い濃度の過酸化水素によって細胞の viability が低下した。また 2.8mM の過酸化水素刺激によって Z65 の L-PDMP 処理と D-PDMP 処理による viability に有意差 ( $p < 0.05$ ) が検出された。

5. Z65 と細胞外マトリックスとの接着は D-PDMP 処理により L-PDMP 処理と比較し、有意に低下した。CHO-K1 では両者の差は認められなかった。従って Z65 では蓄積した糖脂質が細胞増殖や過酸化水素刺激に対する耐性、および細胞接着に影響することが示された。

本研究はこれまで報告されていなかったペルオキシソーム形成異常症患者組織糖脂質代謝変化を明らかにした。さらに糖脂質代謝変化がペルオキシソーム欠損細胞の増殖、過酸化水素刺激に対する耐性および細胞接着能に影響する事を示し、学位の授与に値するものと考えられる。