HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	分子イメージングを用いたスフィンゴミエリンおよびスフィンゴミエリン合成酵素2の生理機能に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	杉本, 正志
Description	配架番号：2265
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12391号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63291
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masayuki_Sugimoto_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　杉本　正志

	主査	教授　玉木　長良
審査担当者	副査	教授　岩永　敏彦
	副査	教授　畠山　鎮次
	副査	教授　久下　裕司

学 位 論 文 題 名

分子イメージングを用いたスフィンゴミエリンおよびスフィンゴミエリン合成酵素 2 の生理機能に関する研究

(Study of physiological functions of sphingomyelin and sphingomyelin synthase 2 by molecular imaging)

代表的なスフィンゴ脂質 (SPL) であるセラミド (Cer) やスフィンゴミエリン (SM) は形質膜上でマイクロドメインを形成する．Cer は Cer 合成酵素 (CerS) によってスフィンゴイド塩基に種々の鎖長のアシル基が付与されることで産生され，SM は SM 合成酵素 (SMS) により Cer から産生される．SM は種々の疾患への関与が報告されており，SMS2 ノックアウト (KO) マウスは高脂肪食 (HFD) 負荷によって惹起される脂肪肝が抑制される．しかしながら，SMS2 の標的組織や分子メカニズムは不明である．申請者は，SM 分子種の組織内分布を可視化しその制御メカニズムを検証することで SM の分子内アシル基鎖長と生理機能との関係を調べた．また，SMS2 の欠損による肝臓における SPL の組成変化と脂肪肝との関係を検討した．

1) イメージング質量分析法 (IMS) を用いて野生型マウスの脳における SM 分子種の組織内分布を可視化し，SM のアシル基鎖長と高次機能との関係を調査した．その結果，脳切片上において C18 アシル基を持つ SM (C18-SM) は細胞体が豊富な灰白質に，C24 アシル基を持つ SM (C24-SM) は髄鞘が豊富な白質にそれぞれ特徴的な分布を示した．また, SM 分子種の分布と in situ ハイブリダイゼーションにより可視化した CerS 遺伝子の発現分布との比較により，C18 アシル CoA を基質とする CerS1 と C18-SM が，C24 アシル CoA を基質とする CerS2 と C24-SM がそれぞれ類似した分布を示すことを確認した．さらに，HepG2 細胞において siRNA により CerS2 遺伝子をノックダウンした際の各 SM 分子種の変動を検証したところ, C18-SM は変化せず C24-SM のみが有意に減少した．2) 各組織における SMS1 および SMS2 遺伝子の発現比を検証し，SMS2 の発現が肝臓や腎臓で高く, 脳や脂肪組織で低いことを確認した．SMS2 が高発現した肝臓において，通常食 (ND) あるいは HFD を与えたマウスを用いて SMS2 の欠損による SM の量的・空間的変動を検証したところ，SMS2 の欠損により肝臓において C22-および C24-SM が減少し，C22-Cer が有意に増加した．また，肝臓における脂肪蓄積や脂肪酸合成を制御する遺伝子の発現が減少した．さらに，肝細胞特異的に SMS2 を欠損させたマウスを作製し，肝細胞の SMS2 が SPL の代謝や脂肪肝に及ぼす影響を検証したところ，脂肪肝の改善が認められなかった．したがって，SMS2KO

マウスで見られた脂肪肝の抑制は肝細胞の SMS2 に依存しないメカニズムによって制御されていることが示された.

IMS を用いた検討により，SM 分子種の分布が CerS によって酵素レベルで厳密に制御されていることが明らかとなった．また，C18-SM は細胞体の，C24-SM が髄鞘の機能や構造維持に重要な役割を果たしているものと考えられた．SMS2 の欠損によって脂肪酸の合成や取り込み抑制を介し脂肪肝が改善したが，肝細胞特異的に SMS2 を欠損させてもこれらの作用が見られず，後者は前者で見られた肝臓における C22-Cer の増加が見られなかった. C22-Cer は肝細胞の脂肪蓄積を抑制することから，SMS2 KO マウスの表現型に C22-Cer が寄与している可能性が示唆され，肝細胞以外の細胞や遠隔臓器による制御を受けている可能性が示唆された．本研究の結果は，IMS が脂質等の生体内分子の可視化に有用であることを示すとともに，SMS2 を標的とした脂肪肝の治療や予防のための方策の確立に貢献するものと思われる.

発表後の質疑応答では 4 人の審査委員から，①肝臓のどの細胞に SMS2 が発現しているか，②腎臓における SM の分布や役割，③細胞体における C18-SM の機能，④ヒトにおける SPL 代謝酵素欠損症の有無，⑤食事由来の脂肪酸組成が SPL の組成に与える影響，⑥SM アシル基鎖長と細胞種および細胞内局在との関係，⑦マイクロドメインを形成する SM の鎖長，⑧極長鎖脂肪酸代謝異常症の解析への応用, ⑨IMS の医療応用への可能性, ⑩脂肪肝におけるヒトとマウスの種差, ⑪脳における解析結果の臨床応用，⑫IMS の定量性における現状と課題，⑬SMS2 阻害剤の評価をどの臓器で行うべきか等について，活発な質疑応答があった．申請者はそれぞれの質問に対して自己の実験データや文献的考察に基づいて，適切にまた真摯に返答した.

審査員一同は，これらの成果を高く評価し，申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した.