

論文内容要旨

報告 番号	甲 創 第 86 号	氏 名	渡邊 綾佑
学位論文題目	lyso スフィンゴ糖脂質が神経細胞死を引き起こす分子機構の解明		
<p>【研究背景】</p> <p>リソソーム病であるスフィンゴリピドーシスは、スフィンゴ糖脂質 (Glycosphingolipids: GSLs) を分解するリソソーム内加水分解酵素の遺伝的欠損により、細胞内に GSLs が過剰に蓄積する遺伝性の先天代謝異常症である。本疾患は、神経細胞死に起因する重篤な中枢神経症状を示すが、その詳細な病態発現機構は不明であり、根本的な治療法は確立されていない。また本疾患では、GSLs だけでなく、その脂肪酸部分が切断された lyso スフィンゴ糖脂質(lysoGSLs)が蓄積することも知られている。この lysoGSLs には細胞毒性があることが知られているが、細胞毒性に関する詳細な分子機構は不明であり、病態との関連も十分に解明されていない。そこで本研究では、lysoGSLs が細胞死を引き起こす分子機構の解明を目標に実験及び解析を行った。</p> <p>【方法・結果】</p> <p>まず、lysoGSLs である lysoGM1 及び lysoGM2 を、ヒト神経芽細胞種 (SH-SY5Y) に添加し、その影響を解析した。その結果、lysoGSLs が細胞生存において重要である PI3K/Akt シグナルを減弱させ、細胞死を起こすことが示された。また、<i>in vitro</i> において PI3K の活性測定を行ったところ、lysoGSLs は直接的に PI3K の活性を阻害することが分かった。PI3K に対する IC50 は lysoGM1 が 5.46 μM、lysoGM2 が 2.42μM であった。PI3K と lysoGSLs が直接相互作用し得るのかを確認するため、<i>in silico</i> におけるドッキングシミュレーションを行った。その結果、lysoGSLs は PI3K の触媒部位に対し親水性の高い部分に糖鎖部分を、疎水性の高い部分に脂肪酸部分を向ける形で相互作用し得ることが分かった。次に、スフィンゴリピドーシスの一種であり、主に GM2 ガングリオシドが蓄積する疾患である Sandhoff 病のモデルマウスを用いて、脳組織における lysoGM2 量を LC-MS にて測定した。その結果、モデルマウスの週齢に応じて lysoGM2 量が増加することが分かった。最後に、この PI3K/Akt シグナルの減弱が、スフィンゴリピドーシスで共通しているのかを確認するため、ゴーシェ病、GM1 ガングリオシドーシス及び GM2 ガングリオシドーシスの患者線維芽細胞を用い、ウェスタンブロッティングにて Akt のリン酸化レベルを評価した。その結果、患者細胞では共通して Akt のリン酸化レベルが低下していた。</p> <p>尚、本研究は徳島大学病院医学研究倫理委員会の承認(No.5331)、徳島大学遺伝子組換え実験安全管理委員会の承認(No.2020-38)及び徳島大学動物実験委員会の承認(T2019-72)を受けて実施した。</p> <p>【考察】</p> <p>以上の結果より、スフィンゴリピドーシスにおける神経細胞死は、lysoGSLs が直接 PI3K の活性を阻害し、PI3K/Akt シグナルを減弱させることで引き起こされるものと考えられる。また、lysoGSLs の蓄積程度が、症状と関連することも明らかとなったことから、lysoGSLs が本疾患の病態発現を引き起こす原因の 1 つであると考えられる。</p> <p>【結論】</p> <p>本研究成果は、これまで不明であった lysoGSLs による細胞毒性機構を明らかにするものであり、今後更なるスフィンゴリピドーシスの病態解明や、治療法開発に役立つものであると考える。</p>			