

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	田 洋 洋
論文審査担当者	主 査 山 田 充 彦 副 査 佐 々 木 克 典・樋 口 京 一
論文題目 Age-dependent PPAR α activation induces hepatic sulfatide accumulation in transgenic mice carrying the hepatitis C virus core gene (HCV コア遺伝子トランスジェニックマウスにおけるペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α 型の加齢依存的活性化は肝臓におけるスルファチド蓄積を誘発する)	
(論文の内容の要旨) <p>【背景と目的】 スフィンゴ糖脂質の一種であるスルファチドは、癌組織に発現し細胞増殖や遠隔転移を促進することが報告されている。従って、スルファチド代謝に関する研究は癌の予防や治療に関する有益な情報をもたらす可能性がある。ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α 型 (PPARα) は、脂肪酸代謝や発癌に関わる核内受容体である。PPARα の活性化は、スルファチド合成酵素の発現を誘導し、組織中のスルファチド含有量を増加させることを我々は報告した。また、HCV コア遺伝子トランスジェニック (HCVcpTg) マウスは、HCV による肝癌発症機序を研究する有益な動物モデルである。我々は本マウスにおいて、PPARα が加齢依存的に活性化し肝癌を発症させることを見出したが、この発癌過程におけるスルファチドの関与は不明であった。本研究では、この点を明らかにするために、HCVcpTg マウスの肝組織を用いて、PPARα 活性化およびスルファチド代謝の加齢依存的変化を検討した。</p> <p>【材料及び方法】 HCVcpTg 及び野生型オスマウス (C57BL/6) を各々3及び16月齢で解析した。16月齢のHCVcpTg マウスでは約30%の個体が肝癌を発症したため、肝癌発症個体から採取した癌部を肝癌サンプル、肝癌非発症個体から採取した肝組織を非腫瘍肝サンプルとした。また、一部の16月齢HCVcpTg マウスに対して、PPARα 拮抗薬であるMK886を解剖日の一週間前から1 mg/kg/dayで腹腔内に反復投与した。肝組織中のスルファチドは、有機溶媒で抽出し、リゾスルファチドに変換後、質量分析法 (MALDI-TOF MS 法) で定量した。また、肝組織中の mRNA 及び蛋白発現量を real-time PCR 法及び Immunoblot 法で測定した。加えて、PPARα の特異的応答領域に対する結合能を ELISA 法で測定し、PPARα の転写活性を評価した。</p> <p>【結果】 HCVcpTg マウスの肝組織では、スルファチド含有量は加齢依存的に増加し、肝癌サンプルではさらに増加した。また、スルファチド合成系酵素 (SPT, CST) 及び運搬蛋白 (GLTP) の発現量は加齢依存的に増加し、その中でも CST 発現は肝癌サンプルで顕著な増加を認めた。加えて、PPARα の発現量と転写活性の加齢依存的亢進が認められ、肝癌サンプルではさらなる増加が見出された。これらの変化は野生型マウスでは認められず、MK886 投与により消失した。一方、酸化ストレス産生酵素群 (Aox, Cyp4A, Nox2) 及び消去酵素 (Cat) の発現量と酸化ストレスマーカーである MDA の含有量は加齢依存的に増加したが、肝癌サンプル・非腫瘍肝サンプルの間では統計的有意差が検出されなかった。</p> <p>【結論】 HCV コア蛋白により誘導される PPARα 活性化はスルファチド合成を促進し、スルファチド蓄積をもたらすことが示唆された。肝癌サンプルで PPARα 活性化とスルファチド蓄積が共に促進したことから、PPARα 活性化を介した肝内スルファチド蓄積が肝癌発症機序に寄与した可能性が示唆された。本研究から、HCV 関連肝癌の発症予防において、肝組織における PPARα 機能およびスルファチド含量の制御が有用である可能性が示唆された。また、過去の研究において、酸化ストレスの増加はスルファチド合成を抑制することが明らかにされている。本研究から、PPARα の活性化は酸化ストレスの増加よりスルファチド代謝制御に強く影響することが示唆された。</p>	