

## 博士論文審査の結果の要旨

氏名	久野 和俊
学位名	博士 (医工学)
学位番号	甲 第 3 号
論文題目	Studies on roles of lysophosphatidylethanolamine in neuronal morphology and survival (神経細胞の形態と生存におけるリゾホスファチジルエタノールアミンの働きに関する研究)
論文審査委員	主査 竹内 あかり 片山 茂 高橋 誠司 吉田 知之 (富山大学)

### (博士論文審査の結果の要旨)

本論文は、神経細胞の形態や生存を調節するリン脂質を特定し、その機能を解析することを目的として研究を遂行し、得られた成果をまとめたものである。申請者は、リン脂質の一種であるリゾホスファチジルエタノールアミン (LPE) に着目し、LPE が神経突起伸長の促進作用と、グルタミン酸毒性に対する保護作用を持つことを明らかにしている。また、LPE によって惹起される細胞内シグナル経路についても丁寧に解析を行っている。

第 1 章では、脳におけるリン脂質の働きならびに神経突起伸長に関する先行研究を含めた背景が丁寧に分かりやすく記載されており、研究の目的も明瞭かつ簡潔に述べられている。

第 2 章では、大脳皮質初代培養神経細胞の形態、生存に影響を与えるリン脂質のスクリーニングを行い、卵黄由来 LPE が強い軸索や樹状突起の領域増加作用を有していることを、軸索と樹状突起を染め分けることができる特異的抗体を用いた免疫染色により示している。引き続き、卵黄由来の LPE の成分である 16:0 LPE と 18:0 LPE を解析し、脂肪酸鎖の異なる 16:0 LPE と 18:0 LPE が共に濃度依存的に神経突起伸長作用を有していることを明らかにしている。また、これら LPE は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) を活性化することも示している。さらに、G タンパクや細胞内シグナルの阻害剤を用いて、これら LPE によって惹起される細胞内シグナルを解析している。これら一連の解析結果から、16:0 LPE と 18:0 LPE が大脳皮質初代神経細胞の神経突起伸長を促進させること、さらに脂肪酸鎖の違いによって活性化される G タンパク共役型受容体 (GPCR) や細胞内シグナルが異なることを示している。中枢神経細胞に対する LPE の作用を初めて明らかにしたこの研究結果は、学術的に意義のある知見といえる。

第 3 章では、質量分析法を用いてマウスの脳における LPE 分子種の構成を網羅的に解析し、脳に豊富に存在する 18:1 LPE が神経突起伸長を促進することを示している。また、G タンパクや細胞内シグナルの阻害剤を用いて、18:1 LPE によって惹起される細胞内シグナルについて解析し、不飽和度の異なる 18:1 LPE と 18:0 LPE は、異なるタイプの GPCR を活性化させることを示している。さらに、18:1 LPE はグルタミン酸毒性による細胞死から神経細胞を保護することを明らかにしている。モデル動物を用いた最近の研究では、外傷性脳損傷や脳虚血後に 18:1 LPE を含めた脳内 LPE 濃度が上昇するとの報告があり、グルタミン酸毒性は脳損傷や脳虚血などの急性疾患による神経細胞死の主要な要因であることから、学術的、病態生理学的にも意義のある知見といえる。本論文全体を通して実験手法、解析法は妥当であり、結果は明瞭である。

第 4 章では、上記の成果を総括したうえで、LPE の脂肪酸鎖や不飽和度の違いが、受容体認識に重要だということを提示し、LPE の正常時における脳機能ならびに病態生理学的意義について十分な議論を行っている。

構造の極めてよく似た LPE が異なる受容体を介してその機能を発揮することを見出した研究結果は、LPE 種による多様な細胞機能調節システムの存在を示唆する重要な知見である。さらに、将来的に治療法や創薬などの開発に繋がる重要な知見も有しており、本論文の学術的、社会的な意

義は高い。これらの成果は2報の論文として査読付き国際学術論文誌に掲載されており、審査基準を満たしている。上記を総合的に考慮して、本論文は博士（医工学）の学位論文として十分に認められるものと判断した。

（公表主要論文名）

1.

Kazutoshi Hisano, Shiori Kawase, Tetsuhiko Mimura, Hironori Yoshida, Hiroki Yamada, Hisao Haniu, Tamotsu Tsukahara, Taiga Kurihara, Yoshikazu Matsuda, Naoto Saito, Takeshi Uemura. Structurally different lysophosphatidylethanolamine species stimulate neurite outgrowth in cultured cortical neurons via distinct G-protein-coupled receptors and signaling cascades. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **534**, 179–185 (2021).

2.

Kazutoshi Hisano, Hironori Yoshida, Shiori Kawase, Tetsuhiko Mimura, Hisao Haniu, Tamotsu Tsukahara, Taiga Kurihara, Yoshikazu Matsuda, Naoto Saito, Takeshi Uemura. Abundant oleoyl-lysophosphatidylethanolamine in brain stimulates neurite outgrowth and protects against glutamate toxicity in cultured cortical neurons [published online ahead of print April 5, 2021]. *The Journal of Biochemistry*.