京都大学	博士（人間健康科学）	氏　名	渡邉　寛
論文題目	Psychosine-triggered endomitosis is modulated by membrane sphingolipids through regulation of phosphoinositide 4,5-bisphosphate production at the cleavage furrow （サイコシンによるエンドマイトーシスは、分裂溝におけるホスファチジルイノシトール4,5-ビスリン酸の生合成を制御する膜のスフィンゴ脂質類によって調節される）		

（論文内容の要旨）

細胞は、細胞周期に従って分裂することで、自身を複製する。細胞周期は、内容物を複製するＳ期と、それを２つに分配するＭ期の２つに分けられ、どちらも正しく行われた時のみ体細胞分裂は成功する。エンドマイトーシスは特殊な体細胞分裂の様式の１つであり、Ｓ期は正常に行われる一方でＭ期の細胞質分裂が完了しない。これは特殊な機構によって制御されることが予想されるが、その分子機構は十分に解明されていない。

細胞膜は細胞の「内」と「外」を隔てる境界であり、脂質の二重膜である。スフィンゴ脂質は細胞膜の構成脂質の１つであり、スフィンゴシンがアシル化されたセラミド骨格と極性基から成る。特に糖鎖を極性基にもつものをスフィンゴ糖脂質(GSL)と呼ぶ。サイコシンはガラクトシルセラミドが脱アシル化した、炭化水素鎖を１つしか持たないリゾ体の GSL である。サイコシンは GSL という生体由来の分子でありながら、エンドマイトーシスを誘導する活性をもつ。これに何らかの生理的意義があると考え、サイコシンによるエンドマイトーシス誘導の分子機構の解明を試みた。

まず、サイコシンの感受性を調節する分子を探索するため、サイコシンの感受性が異なる複数の細胞株間で相関解析を行った。その結果、細胞のサイコシン感受性の強度はコレラ毒素Ｂサブユニット(CTxB)による染色強度と正の相関を示した。CTxB は GSL のうち、GM1 を認識することが知られており、細胞の GM1 がサイコシンの感受性を調節すると仮説を立てた。相関解析で用いた中で最も強い感受性を示した Namalwa 細胞において､GM1 合成酵素をノックダウンすると、CTxB の染色強度の低下と相関して感受性の減弱が観察された。以上の結果から、GM1 はサイコシンの感受性を正に調節することが示唆された。

次に、GSL による感受性の調節をより詳細に検討するため、Namalwa 細胞において GSL の発現量変化が感受性に及ぼす影響を調べた。グルコシルセラミド(GlcCer)は最も単純な GSL であり､GlcCer を起点として GM1 を含む様々な GSL 分子種が生合成される。GlcCer はセラミドを基質として生合成されるが、これは極性基にホスホコリンをもつスフィンゴミエリン(SM)の生合成と競合する。この生合成上の分岐点に関わる、GlcCer 合成酵素、SM 合成酵素を Namalwa 細胞に過剰発現させたところ、前者では GSL の増加と SM の減少が観察され、サイコシンの活性は増強された。一方後者では GSL の減少と SM の増加が観察され、活性が減弱した。従って、サイコシンの活性は GSL と SM のバランスによって制御されることが示唆された。

M 期において、分裂溝に集積するホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸(PIP_2)が細胞質分裂に重要な機能を果たす。近年、細胞膜の内葉における PIP_2 の集積が外葉の SM クラスターの集積によって制御されることが報告された。サイコシンがこれらを標的にする可能性を考え、SM クラスターや PIP_2 に特異的なプローブを用いて細胞を染色、観察した。その結果、SM の発現量が変化しない場合でも、サイコシンは外葉において SM のクラスター化を阻害し、分裂溝の内葉における PIP_2 の集積を抑制した。

本研究では、サイコシンが分裂溝における SM のクラスター化を阻害することで PIP_2 の集積を抑制し、エンドマイトーシスを誘導することを明らかにした。これは細胞分裂における GSL の新たな機能を提唱するものであり、また生体でおきるエンドマイトーシスを成立させる機構の解明にとって重要なものである。

（論文審査の結果の要旨）

体細胞分裂では DNA など細胞内容物の倍化に引き続き、その分配がおこる。エンドマイトーシスは、体細胞分裂の特殊な様式であり、分配を伴わない細胞内容物の倍化のみを繰り返すが、その制御機構については不明な点が多い。サイコシンはリゾ型のスフィンゴ糖脂質で、エンドマイトーシスを誘導する活性を持つ生体脂質である。本研究では、エンドマイトーシスの制御機構を明らかにする目的で、サイコシンによるエンドマイトーシス活性を調節する機構が解析された。

申請者は、スフィンゴ脂質発現を変化させたリモデリング細胞を作成し、サイコシンによるエンドマイトーシスは、細胞が発現するスフィンゴ脂質類により制御されることを見出した。すなわち、極性基の異なるスフィンゴ脂質類のうち、糖脂質は活性を促進、スフィンゴミエリン(SM)は活性を抑制した。細胞膜で SM のクラスターは足場として、ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸($PI4,5P_2$)生合成を制御することが知られている。この $PI4,5P_2$ は、M 期において細胞質分裂期の分裂溝で細胞骨格を制御する。申請者は、サイコシンがこの SM クラスターを崩壊させて、体細胞分裂する細胞をエンドマイトーシスサイクルへと変換することを示した。

以上の研究は、いまだ未解明の部分が多い細胞質分裂の制御機構の解明に貢献する重要な研究であり、今後のエンドマイトーシスを人為的に制御する応用研究にも寄与することが期待される。

したがって、本論文は博士（人間健康科学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２８年１２月９日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。