

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	大林 洋子
論文題目	Novel physiological function of proline and mTOR regulator tuberin (プロリン及びmTOR調節因子tuberinの新たな生理機能に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>糖原生アミノ酸であるプロリンは、コラーゲタンパク質構成アミノ酸として皮膚・骨等に大量に蓄積され、さまざまなストレスシグナルに反応して組織から放出されて特異的な生理機能を発揮する。ラットのガラクトサミン (GalN) 肝障害モデルにおいて、プロリン前投与は顕著な肝障害抑制作用を示すことが報告されているが、障害抑制メカニズムの詳細は明らかにされておらず、GalN投与後の投与では効果を示さないことからエネルギー源以外の作用が考えられた。</p> <p>本論文では、ラットのGalN肝障害モデルを用いて、プロリンによる抗炎症・肝再生・抗酸化能増強作用を明らかにし、早期動脈硬化モデルを用いて血管内皮における抗炎症・内皮機能不全の抑制作用を見出した。また肝再生に関連して、タンパク合成系mTORシグナルのネガティブレギュレーターとして知られるtuberinの肝再生時の新機能を見出した。一方、アラニルグルタミン血中投与時の血中アンモニア上昇に及ぼす抗がん剤シスプラチンの影響を検証したところ、シスプラチン投与は血中アンモニア上昇を顕著に増加させることを見出した。これらの成果は以下に要約される。</p> <p>GalN肝障害モデルにおけるプロリン投与の肝炎症・肝再生に及ぼす影響を検証したところ、コントロール群では、3日目以降の致死率が約60%であったのに対し、2g/kgのプロリン前投与群において致死率は0%であった。プロリン投与群では炎症細胞の浸潤・肝細胞壊死の抑制およびGOT値・GPT値の有意な減少が見られた。また炎症抑制に先立ち、主要な肝再生シグナルの一つであるIL-6/STAT3シグナルがプロリン投与群で有意に増強されており、肝再生の指標であるHiston H3 遺伝子発現量が顕著に増大することを見出した。また、ラットGalN肝障害モデルにおいて、プロリン投与が肝臓の主要な抗酸化システムに及ぼす影響を検証した結果、肝カタラーゼ活性、及び過酸化水素除去機能を担うグルタチオン酸化還元システムが早期に増強されていることを見出した。</p> <p>動脈硬化の発症・進行には血管内皮の炎症・機能不全が大きく関与する。GalN肝障害モデルでプロリンによる抗炎症作用が見出されたことから、高脂血症によるラット早期動脈硬化モデルを用いて、プロリンが内皮の炎症・機能不全に及ぼす影響を検証した。高脂血症モデルの動脈では、内皮細胞のendothelial NO synthase (eNOS) によるNO産生が抑制され、血管弛緩能が低下する。高脂血症モデルラットの胸部大動脈において、プロリン投与は内皮依存性血管弛緩能を有意に増強することを見出した。さらに同ラットにおいては、炎症性細胞の組織浸潤時の足場となる接着因子の発現を、プロリン投与が有意に抑制していた。動脈肥厚を抑制するp21 (cyclin dependent kinase inhibitor) は動脈肥厚進行時に発現低下するが、p21遺伝子発現量はコントロール群に比しプロリン投与群で有意に増大していた。これらの結果から、プロリン投</p>			

与が動脈硬化発症時の血管内皮の炎症・機能不全・動脈肥厚を抑制することを示した。

次にmTORのネガティブレギュレーターとして知られるtuberinが肝再生に及ぼす影響について検証した。2/3肝切除後早期に、mTOR活性化と相関するtuberinリン酸化の惹起を見出し、当該リン酸化はAktリン酸化部位以外であることを示した。tuberinの発現量が野生型の約50%であるTSC2ヘテロ接合体マウス肝臓では、肝切除24時間後の脂肪滴形成に異常が見出されたことから、tuberinは肝再生早期の主要なエネルギー源である脂質の輸送・供給に寄与することが示唆された。

病態時のアミノ酸投与の安全性については、生体が十分なアンモニア処理能を維持していることが重要であることから、抗がん剤シスプラチンのアンモニア処理能に及ぼす影響について検証した。シスプラチン投与1～4日後にアラニルグルタミンを血中に持続投与し、血中アンモニア上昇を測定したところ、コントロール群では血中アンモニア上昇は見られなかったが、シスプラチン投与群では3日後をピークとして顕著なアンモニア上昇が見られたことから、シスプラチンがアンモニア処理能を低下させることが示唆された。

以上のように本論文は、プロリンによる肝再生・抗酸化能増強・抗炎症への関与とその作用機序、ならびにmTOR調節因子tuberinの肝脂質輸送に関する新たな生理機能を示したものである。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

アミノ酸の栄養素以外の生理機能の詳細については、アミノ酸の多機能性と生理活性の弱さから、未解明の問題も多く明確な仮説に基づく検証が必要である。本論文ではプロリンによるガラクトサミン (GalN) 肝障害抑制のメカニズムの詳細を明らかにし、抗炎症作用に着目して動脈硬化発症早期における血管内皮機能不全・炎症に対する抑制作用を明らかにしその機序について検討を加えた。またmTORのネガティブレギュレーターであるtuberinの肝再生時における新しい生理機能を明らかにした。評価すべき点として以下の3点が挙げられる。

1. プロリンによるGalN肝障害抑制メカニズムとして、炎症細胞の肝への浸潤・肝細胞壊死の抑制、主要な肝再生シグナルの一つであるIL-6/STAT3シグナルの増強、肝再生の指標であるHiston H3 遺伝子発現量の顕著な増加を見出した。また肝カタラーゼ活性、グルタチオン酸化還元システムといった肝臓の主要抗酸化システムの早期増強を見出した。これらの結果より、プロリンによるGalN肝障害抑制のメカニズムとして、抗炎症、肝再生促進、抗酸化能増強が寄与していることを示した。

2. 動脈硬化の発症・進行に寄与する重要なファクターである血管内皮の機能不全・炎症に対し、プロリン投与が内皮依存性血管弛緩能を有意に増強し、炎症性細胞の組織浸潤の足場となる接着因子の発現を有意に抑制することを見出した。

3. 肝再生時にmTOR活性化と相関するtuberinのリン酸化を明らかにし、肝再生時にtuberinがmTORのネガティブレギュレーターとして機能している可能性を示した。一方で、肝におけるtuberin発現量が野生型の50%程度であるTSC2ヘテロ接合体マウスでは、予想に反して肝再生が遅延し、致死率が増加することを見出し、肝における脂肪滴形成が顕著に損なわれることを明らかにした。これらの結果から、Tuberinが肝再生の主要エネルギー源である肝の脂質の輸送・供給に関与している可能性を初めて示した。

以上のように本論文は、プロリンによる肝再生促進、抗酸化能増強、抗炎症作用やmTORのネガティブレギュレーターであるtuberinの肝再生時における新たな生理機能を明らかにしたものであり、基礎生理学、細胞生化学、分子生物学に寄与するところが大きい。よって本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成30年2月8日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）