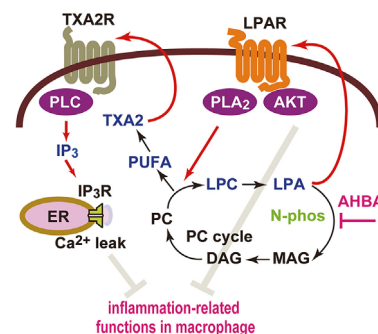


京都大学	博士（薬科学）	氏名	LIU FENG
論文題目	Soluble epoxide hydrolase maintains steady-state lipid turnover linked with autocrine signaling in peritoneal macrophages (可溶性エポキシドヒドロラーゼは腹膜マクロファージの自己分泌シグナル伝達と関連した定常状態の脂質代謝回転を維持する)		

**【序論】** 哺乳類では、可溶性エポキシド加水分解酵素 (sEH) は体組織のさまざまな細胞タイプで広く発現され、2つの触媒活性があります、C末端ドメインはエポキシド加水分解酵素 (C-EH)、N末端ドメインは脂質脱リン酸化酵素 (N-phos) として機能する。C-EHはエポキシ脂肪酸に作用し炎症誘発性アシルジオールを生成するが、さまざまな疾患モデルにおけるいくつかの阻害剤と変異マウスを用いて広範囲に特徴づけられてきました。しかし、N-phos の役割についてまだ不明のままです。私の共同研究者蓮見先生のグループは、N-phos活性を選択的に調節する化学ツールを使用して、N-phosの病理学および生理学的役割を調べることを目的として、アミノ-ヒドロキシ安息香酸 (AHBA) がN-phos を特異的に阻害することを現在示していた。この研究では、免疫学的研究の初代培養モデルとして広く使用されているチオグリコール酸誘発腹膜マクロファージ (TGPM) における AHBA 媒介 N-phos 阻害に注目した。



**【方法】** この研究では、C57BL/6Jマウス由来チオグリコレート誘導マクロファージ (TGPMs) を単離して、Fura-2 細胞内Ca<sup>2+</sup>イメージング、各種シグナル経路の阻害薬による薬理学実験、タンデム質量分析リピドームの外注分析、タンパク質リン酸化変動を評価するウエスタンブロッティングなどにより、AHBAの作用を検討した。さらに、IP<sub>3</sub>、TXA<sub>2</sub>s産生、遊走や貪食作用、M1炎症性マクロファージ、M2抗炎症性マクロファージの分極化などの細胞機能に対するAHBAの効果も検討した。

**【結果】** AHBAは細胞内 Ca<sup>2+</sup>ストアのCa<sup>2+</sup>含有量を減少させた。薬理的検討より、AHBAのストアCa<sup>2+</sup>含量低下作用は、LPA受容体とTXA<sub>2</sub>受容体の活性化による定常状態シグナル伝達の変動による効果によることが推定された。Gi/o 活性化の下流で、cPLA<sub>2</sub> は ERK 媒介リン酸化によって刺激され、そして AKT も PI3K 依存的に刺激された。また、AHBAはリゾホスファチジン酸 (LPA)、アラキドン酸等の多価不飽和脂肪酸およびトロンボキサンA<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) の不活性化代謝物のTXB<sub>2</sub>などの細胞内含量を増加させ、遊走、貪食、炎症性サイトカイン産生を抑制することも観察された。

**【考察】** N-phosは定常状態のリン脂質代謝回転を維持するための重要な脱リン酸化を触媒し、また、AHBA 誘導性 N-phos阻害は自己分泌シグナル伝達を刺激して、TGPM の炎症関連機能を軽減することが推定された。この脱リン酸化反応は定常時のリン脂質代謝回転、キナーゼ情報伝達やストアCa<sup>2+</sup>ハンドリングを調節すると考察され、N-phos が抗炎症薬の有望な標的となる可能性も示唆された。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

可溶性エポキシド加水分解酵素 (sEH) は 2 つの酵素活性を有し、C 末端のエポキシド加水分解酵素 (C-EH) と N 末端ドメインは脂質脱リン酸化酵素 (N-phos) として触媒機能を発揮する。C-EH は抗炎症エポキシ脂肪酸を水解するため、その疾患病態における機能検討は先行しており、C-EH 阻害化合物を抗炎症薬として開発する試みも進行中である。一方、N-phos の細胞内基質は確定しておらず、その生理的な役割は不明である。ティムス社の蓮見博士らは血栓溶解促進化合物 TMS-007 を発見した。TMS-007 はプラスミノゲンアクチベータの活性化作用と sEH 阻害による抗炎症作用を併せ持つことが見出されており、その脳梗塞治療薬としての開発に向けて治験研究が進められている。上述の C-EH 阻害薬物や TMS-007 は、C-EH とともに N-phos も阻害するため、臨床薬開発に向けて N-phos 阻害による抗炎症作用の有無は重要な命題となっている。蓮見博士らは C-EH に影響することなく N-phos を阻害する化合物としてアミノ-ヒドロキシ安息香酸 (AHBA) を検索しており、その抗炎症作用の有無が現在注目されている。

本提出論文では、腹腔マクロファージにおける AHBA による N-phos 阻害の応答が詳細に検討された成果が記述されている。N-phos の主要な細胞内基質はリゾホスファチジン酸 (LPA) であること、N-phos 阻害により LPA 受容体とトロンボキサン A2 受容体を介するオートクリンシグナル伝達が活性化することが示された。また N-phos 阻害により炎症性マクロファージ関連機能が抑制されることも観察され、C-EH 阻害のみならず、N-phos 阻害も様々なタイプの病態にて抗炎症作用に寄与することが示唆された。さらなる追加検討が必要となるものの、得られた研究成果は既に英文原著論文として発表されており、N-phos が新たな抗炎症薬開発に向けて重要な標的酵素となる可能性を示すものでもある。よって、本論文は博士 (薬科学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 6 年 2 月 14 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。