

論文内容要旨

論文題目

ヒアルロン酸合成酵素の発現解析

責任分野： 視覚病態学 分野

氏名： 上領 勝

【内容要旨】(1,200字以内)

ヒアルロン酸 (ヒアルロナン or Hyaluronan) は、細胞外マトリックスのひとつであり、眼組織のなかでも特に硝子体に多く含まれている。ヒアルロン酸はそのサイズによって生理活性が異なっており、低分子量のヒアルロン酸である Hyaluronan oligo saccharide では、炎症性サイトカインの誘導や血管新生作用があり、反対に高分子量のヒアルロン酸は炎症性サイトカインや血管新生を抑制すると報告されている。ヒトやマウスでは3種類のヒアルロン酸合成酵素(Has)が存在するが、その発現や制御については詳しいことはわかっていない。また Hyaluronan oligo saccharide の与える影響について、未熟な細胞での報告はない。増殖性糖尿病網膜症などでは、硝子体の状態が病状に影響し、また HAS の発現がみられるとの報告がある。これらより、本研究では Has2 の発現について検討した。また、ES 細胞を用いて Hyaluronan oligo saccharide の影響を検討した。

Has2 に異なった tag をつけて、COS-1 細胞に co-transfection することによって、Has2 は homo-oligomer を形成していることがわかった。条件を変えて発現を調べたが、すべての条件で oligomer を形成していた。Has2 と Has3、Has2 と CD44、Has3 と CD44 についても oligomer を形成しているか調べたが、形成していなかった。このことより Has2 はもともと homo-dimer を形成しており、さらに大きな oligomer も形成している可能性が示唆された。しかし意義については不明である。また過去の報告から、protein kinase C(PKC) の活性化によって、Has が直接リン酸化されている可能性が報告されたが、本研究ではリン酸化されていなかった。しかし、モノユビキチン化されている可能性があり、それは PKC の活性化によって促進される可能性が示唆された。これらより、PKC の活性化によって、Has2 の代謝回転が促進される可能性があることがわかった。

Hyaluronan oligo saccharide 刺激による Embryoid body の反応は、コロニーが最も拡大していた。これより、細胞増殖や migration が非常に促進されている可能性があることを示された。また管空形成がみられ、CD31 や ASMA の発現がみられたが、違いは明らかではなく、血管の成熟度についてはさらなる検討が必要であると思われた。

以上より、Has2 は homo-oligomer を形成しており、PKC の活性化によって代謝回転が促進される可能性があることが推測された。Hyaluronan oligo saccharide は未熟な細胞にも影響し、細胞増殖や migration が促進される可能性があることを示した。

平成 20 年 8 月 28 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：上領 勝

論文題目：ヒアルロン酸合成酵素の発現解析

審査委員：主審査委員

比中千史 (印)

副審査委員

真弘光章 (印)

副審査委員

山川光徳 (印)

審査終了日：平成 20 年 8 月 22 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ヒアルロン酸は細胞外マトリックスのひとつであり、ヒアルロン酸合成酵素HASにより産生される。眼疾患におけるヒアルロン酸の役割としては、ヒアルロン酸の過剰産生が増殖性糖尿病網膜症の増悪に関わっていることが指摘されている。またこの病態発生に関与するHASとして、これまでの報告から哺乳動物に3種類存在するHAS遺伝子(HAS1-3)のうちHAS2の関与が最も考えられる。このことはHAS2の機能制御が眼疾患治療のターゲットとなりうることを示唆するものであるが、これまでHAS2のみならず他のHASも含め、その機能発現・制御のメカニズムについてはよくわかっていない。HAS蛋白質は膜貫通・結合領域をもち形質膜に局在して機能すること、下等動物のHASを用いた解析からcardiolipinのような脂質と結合していること等が知られているが、高等動物のHAS蛋白質の機能発現・制御に関する情報は極めて限られており、例えばHASがどのような細胞内分子との相互作用を通じて機能制御が行われているかについても不明である。そこで本研究において上領氏はHAS2に着目し、HAS2がヒアルロン酸合成酵素として機能している状態でどのような分子と物理的に相互作用しているかを明らかにすることにより、HAS2の機能発現・制御機構を理解しようと試みた。そして種々の検討を行う過程で、上領氏はHAS2が自分自身と結合していることを見出した。この結果はHAS2がホモ多量体を形成している可能性を示唆するものである。従来HASは単量体として機能していると考えられてきたが、これに対して今回の発見は全く予想外の知見であり、今後HASを対象とする機能解析研究の領域において全く新たな方向性を生み出す可能性がある。

本研究ではこのように極めて新規性の高い知見が得られており、HAS機能発現における多量体形成の役割に関する検討も含めて、新たな研究の方向性を示すものである。また、ホモ多量体の形成がHASの機能発現に必須であることが明らかになれば、多量体形成のメカニズム解明等を通じてHASの機能発現機序のさらなる理解ないしこれをターゲットとした(眼)疾患の治療へと結びつく可能性も考えられる。

このように本研究の知見は大きな潜在的意義を有する一方、ホモ多量体形成のHAS機能発現における役割が明らかでない限り本研究はprematureであり、その意義を認めることに慎重であるべきではないかとの意見も審査会では出された。そこで審査会では本研究の新規性・潜在的重要性と未完性の両観点から慎重に議論を重ねた結果、本研究が学位授与に値すると判断した。尚、学位論文内容についても審査員の意見に沿って修正を行い、また論文題目についても修正後論文に相応しいものに変更するよう要望が出された。

(1, 200字以内)