

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 薬 学 )	氏名	藤田 啓子
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
ヒト胆管上皮癌細胞株における <i>Lysophosphatidylcholine</i> および酸化遊離脂肪酸によるアポトーシス誘導機構の解析			
論文審査担当者			
主 査	教 授	仲 田	義 啓
審査委員	教 授	高 野	幹 久
審査委員	教 授	小 澤	孝一郎
〔論文審査の要旨〕			
<p>膵胆管合流異常症や肝内結石症において、胆道悪性腫瘍の発症率が高いといわれているが、そのメカニズムの詳細は不明である。これらの病態下において、胆管への膵液逆流により、膵臓で産生される phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) の胆汁中濃度が上昇し、lysophosphatidylcholine (LPC) の産生が亢進していると報告されている。LPC は種々の細胞に対してアポトーシスを誘導することが知られている。LPC は胆汁の主要構成成分である phosphatidylcholine (PC) が PLA<sub>2</sub> により加水分解されることにより生じ、LPC と同時に PC 由来の遊離脂肪酸が生成する。また、LPC は G2A 受容体発現を up-regulate させ、アポトーシスと密接に関与していることが報告されている。本論文では、ヒト胆管上皮細胞株 HuCCT-1 細胞を用い、LPC 及び遊離酸化脂肪酸によるアポトーシス誘導機構の検討を行っている。</p> <p>LPC100 <math>\mu</math> 暴露により、細胞障害が認められ、アポトーシスが引き起こされた。この LPC 誘導性アポトーシスシグナル伝達経路として caspase-3, 8, 9 の上昇、BAX の mRNA 発現の増加により、ミトコンドリアを介する経路であることが示された。また、LPC の基質である</p>			

PC の濃度依存的に LPC 誘導性細胞障害が抑制された。

次に LPC 誘導性アポトーシスに関与すると考えられている G2A 受容体の発現変動についての検討を行った。LPC 100  $\mu\text{M}$ 、1 および 5 時間曝露にてコントロールと比較して約 5 倍まで G2A mRNA 発現量が上昇した。これは、一般的に G2A 受容体高発現臓器として報告されている脾臓、リンパ腫細胞株と同程度であった。また、G2A タンパク質においてもコントロールと比較して LPC 10、50 および 100  $\mu\text{M}$  曝露にてバンドが濃く現れているため、LPC により濃度依存的に G2A 受容体タンパク発現が増加していることを確認した。

9-HODE および各種遊離脂肪酸の濃度は 10、50、100  $\mu\text{M}$  とし、5 時間曝露した。その結果、9-HODE 100  $\mu\text{M}$  で有意な細胞障害性が認められたが、その他の脂肪酸についてはいずれの濃度においても有意な影響は認められなかった。また、9-HODE は LPC と共存することにより、LPC 単独曝露よりも強い細胞障害性を示した。

このように本論文では HuCCT-1 細胞において、LPC はミトコンドリアを介したアポトーシス経路を活性化することが示された。細胞膜や胆汁中に豊富に存在し、LPC の基質となる PC は、LPC 誘導性細胞障害に対して保護的な作用を示すことが示された。

また、リノール酸由来の酸化遊離脂肪酸である 9-HODE は LPC と共存することにより、LPC による細胞障害を増強させることが示唆された。

以上の結果から、本論文は膵胆管合流異常などの病態下において、胆汁中 PC 由来 LPC や酸化遊離脂肪酸である 9-HODE が胆管上皮細胞障害を来すことが示唆された。胆汁うっ滞や膵胆管合流異常などの LPC 濃度が上昇する病態の発癌機序が解明され、適正な治療法および予防法有益な情報を提供するものと考えられる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。