

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	坂井 千恵美
学位授与の条件	学位規則第4条第1(2)項該当		
論文題目 Fish oil omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage in vascular endothelial cells (オメガ3系多価不飽和脂肪酸は血管内皮細胞におけるDNA損傷を軽減する)			
論文審査担当者			
主査	教授	木原 康樹	印
審査委員	教授	田代 聡	
審査委員	教授	東 幸仁	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>n-3系多価不飽和脂肪酸（n-3 PUFA）、特にエイコサペンタエン酸(EPA)とドコサヘキサエン酸(DHA)は心血管疾患リスクを減らすことが報告されている。しかしEPA・DHAが抗動脈硬化作用をもたらす詳細なメカニズムはまだ明らかにされていない。近年、心血管疾患の成因におけるDNA損傷の役割が注目されている。そこで本論文では、n-3 PUFAの血管保護作用のメカニズムを明らかにするためにDNA損傷への影響について検討した。</p> <p>ヒト大動脈内皮細胞(HAEC)にH₂O₂を用いてDNA損傷を誘発した。リン酸化ヒストンH2AX(γH2AX)抗体を用いた蛍光免疫染色を行いDNA二本鎖切断を定量的に評価した。酸化ストレスによるDNA二本鎖切断は、EPAで処置した細胞では未処理の細胞に比し、H₂O₂暴露後30分で30%、24時間で47%有意に減少した。DHAも同様の作用を認めた。DNA損傷応答の主要タンパクであるATMのリン酸化はEPAとDHA処置によりそれぞれ31%と33%有意に減少した。この結果から、EPAとDHAのDNA損傷軽減作用はDNA修復の活性化によるものではないことが示唆された。次にDNA損傷の原因となる酸化ストレスへのEPAとDHAの影響を調べた。CM-H₂DCFDAを用いてHAECの活性酸素種(ROS)産生量を定量したところ、内因性およびH₂O₂刺激によるROSの産生はEPAとDHA処置により有意に減少した。種々の抗酸化分子のmRNAの発現をリアルタイムPCR法により定量したところ、EPAとDHAはHO-1、TXNRD1、FTH、FTL、SOD2のmRNAの発現を有意に増加した。また、これらの抗酸化分子を誘導する転写因子NRF2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2)の発現も増加していた。NRF2のノックダウンによりこれらの抗酸化分子の発現増加は著明に抑制された。SOD2の発現はNRF2とFOXO1のダブルノックダウンにより相加的に抑制された。さらにNRF2ノックダウンした細胞においてEPA・DHAによる細胞内ROSの減弱効果は消失した。DNA損傷の結果としての細胞老化に対するEPA</p>			

と DHA の影響を検討した。EPA と DHA は H_2O_2 による老化関連 β -gal 活性上昇をそれぞれ 31% と 22% 有意に抑制した。EPA と DHA の H_2O_2 による老化関連 β -gal 活性上昇抑制効果は NRF2 のノックダウンにより消失した。

以上の結果を総括すると、EPA と DHA は血管内皮細胞において酸化ストレスによる DNA 損傷および細胞老化を軽減することが示された。EPA と DHA の酸化ストレスによる DNA 損傷および細胞老化軽減作用は NRF2 あるいは FOXO1 を介した抗酸化応答によることが示唆された。本論文は n-3 PUFA が抗酸化分子の発現増加によってゲノム保護作用を有し、心血管疾患を予防する可能性を示唆した。

よって審査委員会委員全員は、本論文が坂井千恵美に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

学力確認の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	坂井 千恵美
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
<p>論文題目 Fish oil omega-3 polyunsaturated fatty acids attenuate oxidative stress-induced DNA damage in vascular endothelial cells (オメガ 3 系多価不飽和脂肪酸は血管内皮細胞における DNA 損傷を軽減する)</p>			
<p>試問担当者</p> <p>主 査 教授 木原 康樹 印</p> <p>審査委員 教授 田代 聡</p> <p>審査委員 教授 東 幸仁</p>			
<p>[学力確認の結果の要旨]</p> <p style="text-align: center;">判 定 合 格</p> <p>上記 3 名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成 30 年 1 月 4 日の第 72 回広島大学研究科発表会 (医学) 及び平成 30 年 1 月 10 日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 n-3 PUFA がゲノム保護作用をもたらす際の n-3 PUFA の細胞内動態及び作用標的 2 n-3 PUFA の効果について細胞実験と臨床研究で結果が相違する理由 3 DNA 損傷から細胞老化に至る経路 4 過酸化水素が DNA 損傷を起こす機序 5 n-3 PUFA が NRF2 の発現及び活性化を誘導する機序 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試問した結果、本学大学院博士課程を修了して学位を授与される者と同様以上の広い学識を有することを全員一致で確認した。</p>			