

論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 創 第 号	氏 名	山下 量平
学位論文題目	動物組織におけるセラミド 1-リン酸およびその前駆体の解析		
<p>【研究目的】 セラミド 1-リン酸 (C1P) は、抗アポトーシス作用や細胞遊走作用等の生理活性を示すことから、新たな生理活性スフィンゴ脂質として注目されている。しかし、動物組織における C1P の存在量、分子種組成および生合成経路については不明な点が多い。本研究ではマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) を用いた C1P の定量方法を開発し、マウス組織の C1P 分子種別に定量した。また、α-ヒドロキシ脂肪酸を有する C1P (hC1P) が皮膚に見いだされたので、その前駆体と考えられるスフィンゴミエリン (SM) について検討を行った。</p> <p>【方法】 マウス組織より脂質を抽出し、TLC にて C1P 画分および SM 画分を単離した。<i>S. chromofuscus</i> 由来ホスホリパーゼ D (PLD) で SM を処理することで、C1P に変換した。これらの C1P を亜鉛錯体の Phos-tag と混合し、複合体を形成させ、MALDI-TOF MS に供した。標準品の C12:0 C1P を用いて作成した検量線より、イオン化効率を補正し、検出されたイオンの相対強度から定量を行った。皮膚に見いだされた hSM は、アセチル化処理前後の MALDI-TOF MS、遊離させた脂肪酸のガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) および液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS-MS) による構造解析を行った。</p> <p>【結果】 マウスの皮膚、脳、肝臓、腎臓、小腸における総 C1P 量は 90 - 350 pmol/g (湿重量) であった。各臓器には、C16 などの長鎖脂肪酸から C24 などの極長鎖脂肪酸を結合する多様な C1P 分子種が存在し、各臓器に特徴的な C1P 分子種組成が見られた。C1P と SM の分子種組成を比較した結果、皮膚や小腸では両脂質クラスの分子種組成に類似性が見られたが、肝臓や脳では類似性は見られなかった。また、皮膚には α-ヒドロキシパルミチン酸を結合する hC1P が存在した。皮膚の SM について、解析を行ったところ、α-ヒドロキシパルミチン酸を有する hSM が 0.1 μmol/g (湿重量) 程度存在していた。</p> <p>【考察および結論】 MALDI-TOF MS、LC-MS/MS および GC-MS を用いた解析により、マウス皮膚にヒドロキシ脂肪酸を含有する C1P および SM が存在することを明らかにした。今回用いた種々の質量分析法は構造解析に有益な情報を与えるだけでなく定量解析にも有用であると考えられる。本研究で示したこれらの解析手法が、分子種特異的なスフィンゴ脂質の役割の解明に役立つことを期待したい。</p>			