

2008 年度 修士論文要旨

## Soluble epoxide hydrolase (sEH)の生理機能解析

関西学院大学大学院理工学研究科  
生命科学専攻 今岡研究室 大黒 亜美

soluble epoxide hydrolase (sEH) は C 末端側にエポキシド加水分解活性を持ち、生理活性物質であるエポキシエイコサトリエン酸 (EET) を基質とすることが知られている。EET は血圧抑制や癌細胞の増殖促進などの様々な生理作用が報告されているが、その代謝に関わる sEH の生理機能については明らかでない部分が多い。特にその発現調節についてはほとんど報告されていない。また sEH は、N 末端側に未だ生理的な基質が明らかでない脱リン酸化活性も有することが最近明らかになった。先行研究によって、EET が低酸素下で血管内皮増殖因子(VEGF)を誘導することが明らかにされたことから、VEGF が増加する過程では sEH の量が変化するのではないかと考え、本研究では sEH の発現調節に着目してその生理機能を明らかにすることを目的とした。

sEH の発現量を変化させる刺激を探索するため、細胞を様々な生理的条件下で培養し sEH 発現量を調べた。その結果、細胞を高グルコース存在下で 72h 培養することにより sEH の発現量が減少することを明らかにした。高グルコースは sEH mRNA、プロモーター( -1091 から +32 までの領域 )活性を共に減少させた。さらに様々な長さの sEH プロモーター領域を用いて検討したところ、上流の -124 から -91 までの領域が高グルコースによる転写抑制に関与している可能性が示された。次に sEH 低下の原因を明らかにするため、まず活性酸素について検討した。高グルコースは、NADPH オキシダーゼやミトコンドリア電子伝達系を活性化させることで、活性酸素の産生量を増加させることが知られている。ミトコンドリア電子伝達系阻害剤 (rotenone、2,4-dinitrophenol) や NADPH oxidase 阻害剤 (DPIC) を細胞に添加すると、高グルコースによる sEH の減少が回復した。また細胞に過酸化水素を添加すると濃度依存的に sEH の発現量が減少したことから、活性酸素が sEH の減少の原因であることが示された。また STZ 投与によって作製した糖尿病マウスの腎臓において sEH 発現量の減少が見られ、インスリン投与により回復した。また近年、糖尿病性網膜症や腎障害において VEGF 発現亢進がその原因であることが報告されている。Hep3B 細胞において sEH をノックダウンすると VEGF の発現量が増加し、sEH 過剰発現では減少した。またエポキシド加水分解活性部位の変異 sEH ではその過剰発現によって WT と同様の効果がみられたが、脱リン酸化活性部位の変異 sEH ではその効果が見られなかった。このことから、この作用には sEH の脱リン酸化活性が関与していることが示唆された。