

氏名	かざわ としひろ 加澤敏広
学位	博士(医学)
学位記番号	新大院博(医)第189号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	ヒト単球由来マクロファージにおける liver X receptor α の 発現と脂質代謝に関する研究
論文審査委員	主査 教授 下條文武 副査 教授 内藤 眞 副査 教授 安保 徹

博士論文の要旨

Liver X receptor α (LXR α)は核内受容体スーパーファミリーのひとつであり、ヒトやマウスでは肝臓、脾臓、小腸、肺、脂肪組織などに発現する他、マクロファージに強い発現が見られる。LXR α は、そのリガンドである酸化低密度リポ蛋白 oxidised low density lipoprotein (LDL)など酸化ステロールと結合すると活性化され、Retinoid X receptor α (RXR α)とヘテロダイマーを形成し、標的遺伝子の発現を誘導する。ATP-binding cassette transporter (ABCA1)やApolipoprotein E (ApoE)など LXR α の標的遺伝子がマクロファージのコレステロールの排出に関わる。最近、マクロファージは LXR α を介して炎症と脂質代謝に関与し、動脈硬化発症に重要な役割を果たしていることが明らかにされた。また、lipopolysaccharide (LPS)がマクロファージにおける ABCA1 や ApoE の発現を抑制し、コレステロール排出機能を抑制することも明らかとなった。しかし、マクロファージにおける脂質代謝と炎症反応の検討は十分ではない。

マクロファージの分化、成熟には顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 Granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)やマクロファージコロニー刺激因子 macrophage-CSF (M-CSF)などの成長因子が必要である。GM-CSFまたはM-CSFの存在下で分化した単球由来マクロファージには機能、形態や表面マーカーや発現する受容体、さらに組織によって分布が異なるとされている。また動脈硬化病変に存在するマクロファージは単球由来マクロファージが GM-CSF や M-CSF、様々なサイトカインにより分化したものと考えられてい

る。本研究ではヒト単球を GM-CSF の存在下で分化したマクロファージ(GM-Mφ)と M-CSF の存在下で分化したマクロファージ(M-Mφ)を用いて、LXRα を含めた脂質関連分子の発現と脂質代謝の変化について検討を行った。

細胞形態は GM-Mφ は細胞質が広く、丸く大きな細胞(Round type)が多数であった。一方、M-CSF の存在下で分化したマクロファージ(M-Mφ)では紡錘状の細胞(Spindle type)が大きな割合を占めていた。表面マーカーの発現は、M-Mφ では CD14 陽性細胞の割合が多く、GM-Mφ では CD71 陽性細胞の割合が多く、形態および表面マーカーともにこれまでの報告と同様であった。また、培養 5 日後では M-Mφ に比べ GM-Mφ では LXRα と ABCA1 陽性細胞が有意に多く、LXRα の蛋白発現が高かった。培養 5 日で酸化 LDL 添加後 48 時間では M-Mφ に比べ GM-Mφ に脂質の取り込み細胞数は有意に増加した。酸化 LDL 添加後の LXRα の免疫染色と Oil red O 染色の二重染色では、GM-Mφ で二重陽性細胞を多く認めた。以上より GM-Mφ は M-Mφ に比べ脂質代謝への関与が大きいと考えられた。

培養 5 日後の GM-Mφ は LXRα の合成リガンド T0901317 によって LXRα と ABCA1 の蛋白発現が増加した。培養 5 日後の GM-Mφ に菌体成分である LPS や Zymosan を添加すると LXRα や ABCA1 の他、MSR-A 蛋白も有意に減少した。さらに培養 5 日後の GM-Mφ に LPS や Zymosan を添加し、さらに酸化 LDL を添加すると 5 日目に脂質の著しい蓄積が見られた。脂質取り込みに関わる MSR-A の発現も減少したが、それ以上に脂質排出に関わる LXRα や ABCA1 の発現が著しく減少したことが要因と考えられた。

以上の成績より LXRα はマクロファージの炎症反応と脂質代謝に重要な役割を果たしており、LPS や Zymosan によって LXRα および ABCA1、MSR-A の発現は低下して泡沫細胞の形成に関ることが示された。

(論文審査の要旨)

Liver X receptor α (LXR α)は核内受容体スーパーファミリーのひとつであり、ヒトやマウスではマクロファージに強い発現が見られる。ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) など LXR α の標的遺伝子がマクロファージのコレステロールの排出に関わり、LXR α を介して炎症と脂質代謝に関与し、動脈硬化発症に重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた。

本研究ではヒト単球を GM-CSF または M-CSF の存在下で分化したマクロファージ (GM-M ϕ または M-M ϕ) を用いて、LXR α を含めた脂質関連分子の発現と脂質代謝の変化について検討した。

培養 5 日後 M-M ϕ に比べ GM-M ϕ は脂質代謝への関与が大きいと考えられた。培養 5 日後の GM-M ϕ は LXR α の合成リガンド T0901317 によって LXR α と ABCA1 の蛋白発現が増加し、LPS や Zymosan を添加すると LXR α 、ABCA1、Macrophage scavenger receptor A (MSR-A) 蛋白が有意に減少した。培養 5 日後の GM-M ϕ に LPS や Zymosan を添加し、さらに酸化 LDL を添加すると 5 日目に脂質の著しい蓄積が見られた。LPS や Zymosan によってマクロファージの LXR α および ABCA1、MSR-A の発現は低下し泡沫細胞の形成に関ることが示された。

以上を明らかにした点に、本研究の学位論文としての価値を認める。