

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 津久井 大輔

本研究は動脈硬化および炎症における Spleen tyrosine kinase (Syk) の役割を明らかにするために、off-target 効果の可能性が考えられる Syk 阻害薬ではなく Syk 遺伝子欠失マウスを用いて動脈硬化の抑制および Syk 遺伝子欠失マクロファージにおける細胞運動性、酸化 LDL 食食, IL-1 β 産生について検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. Syk^{del/del}Rosa26CreER^{(T2)/+}LDLR^{-/-}マウスは Syk^{+/+}Rosa26CreER^{(T2)/+}LDLR^{-/-}マウスと比較して体重や血清脂質値に影響を与えず、大動脈洞および大動脈における動脈硬化病変を抑制した。
2. Syk 遺伝子欠失によるマクロファージの細胞運動性への影響
細胞フリーゾーンに浸潤した細胞数および細胞の移動距離は共に Syk^{del/del}群で有意に低下していた
3. Syk 遺伝子欠失によるマクロファージのケモカイン依存遊走への影響
CCL2 100 ng/ml で刺激 3 時間後に移動した細胞数を測定したところ、Syk^{del/del}群で有意に減少していた。
4. Syk 遺伝子欠失による酸化 LDL の食食に対する影響
Syk^{+/+}群と Syk^{del/del}群で泡沫細胞化に有意な差はみられなかったが、取り込まれた脂質量は Syk^{del/del}群で低下していた。
5. Syk 遺伝子欠失の細胞内コレステロール結晶形成に対する影響
Syk^{+/+}群と Syk^{del/del}群で細胞内コレステロール結晶の形成に有意な差は認めなかった
6. Syk 遺伝子欠失による BMDM における IL-1 β 産生への影響
LPS 1, 10, 100 ng/ml で 24 時間刺激した後、酸化 LDL で 6 時間、さらに ATP で 1 時間刺激を加え、培養上清中の IL-1 β の産生を Syk^{+/+}群および Syk^{del/del}群を比較したところ、予想と反して Syk^{del/del}群で IL-1 β 産生が有意に上昇していた。さらに、LPS 20 ng/ml およびコレステロール結晶または ATP, Nigericin 刺激後の培養上清中 IL-1 β においても、同様に Syk^{del/del}群で有意に上昇していた。LPS 刺激, NF- κ B 活性化により産生される TNF- α についても同様に Syk^{del/del}群で有意に上昇していた。
7. Syk 遺伝子欠失による BMDM における pro-IL-1 β 産生への影響
LPS 刺激のみで IL-1 β 産生が認められ、かつ Signal 2 として強力な刺激である ATP や Nigericin でも同様に差がみられたことから、Syk が Signal 1 に影響していると考え、LPS 20 ng/ml 刺激後に、pro-IL-1 β の遺伝子発現および細胞溶解液中タンパク量を評価したと

ころ、いずれも Syk 遺伝子欠失群で有意に上昇していた。

8. Syk 遺伝子欠失マウスにおけるコレステロール結晶腹腔内投与による炎症細胞浸潤への影響

好中球数は Syk^{del/del} で増加傾向はみられるものの有意な差はみられなかったが、炎症性単球+腹腔内マクロファージに関しては Syk^{del/del} 群において有意な増加がみられた。

以上、本研究では Syk 遺伝子欠失により大動脈洞と大動脈壁における動脈硬化抑制が認められ、Syk 遺伝子欠失マクロファージにおける細胞運動性低下および酸化 LDL 貪食の低下が示された。一方で、Syk 阻害薬を用いた多くの既報と異なり Syk 遺伝子欠失マクロファージの IL-1 β 産生については抑制されず、むしろ促進する可能性を示した。本研究はこれまで報告のない Syk 遺伝子欠失マウスによる動脈硬化抑制を示すとともに、多くの既報と異なり IL-1 β 産生における新たな Syk の作用機序解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。