

審査の結果の要旨

氏名 西川 真子

本研究は動脈硬化の病態生理におけるリゾホスファチジルセリン(LysoPS)の役割について調べるため、マクロファージに対する LysoPS の作用を明らかにすることを目的とし、マウス単球系細胞株である RAW 264.7 細胞とマウス腹腔マクロファージ(MPMs)を用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マクロファージの泡沫化の原因であるリポ蛋白の取り込みを、RAW 264.7 細胞を用いて検討した。RAW 264.7 細胞に oxLDL とともに LysoPS を投与した群は、oxLDL 単独群と比べて、細胞内総コレステロール量が有意に増加した。LysoPS 単独群や酸化していない LDL とともに LysoPS を投与した群では、細胞内総コレステロール量の増加はみられず、LysoPS が oxLDL 特異的な取り込みを増強することが示唆された。RAW 264.7 細胞をリポポリサッカライド(LPS)で活性化させた場合も、oxLDL とともに LysoPS を投与した群は、oxLDL 単独群と比べて、細胞内総コレステロール量が有意に増加した。また、LPS を投与しない RAW 264.7 細胞において、LysoPS 投与群で、マクロファージへの oxLDL 取り込みの主経路であるスカベンジャー受容体(CD36、MSR1、LOX1、TLR4)の発現量の有意な増加がみられた。

2. マウス腹腔マクロファージ(MPMs)を用いて、リポ蛋白の取り込みを検討した。oxLDL とともに LysoPS を投与した群は、oxLDL 単独群と比べて、細胞内総コレステロール量が有意に増加した。MPMs を LPS で活性化させた場合も、oxLDL とともに LysoPS を投与した群は、oxLDL 単独群と比べて、細胞内総コレステロール量が有意に増加した。

3. LysoPS 投与による炎症性メディエーターの mRNA 量の変化を検討した。LysoPS 投与により、LPS で活性化した RAW 264.7 細胞と MPMs で TNF α と MMP-9 の発現が有意に減少し、LPS で活性化した MPMs ではさらに、IL-6 と MCP-1 の発現も有意に減少した。

4. LysoPS 投与による NF- κ B 活性への影響についてウエスタンブロットで検討した。LPS で活性化した RAW 264.7 細胞と MPMs で、LysoPS が p65 と I κ B- α のリン酸化を抑制することが確認された。

5. LysoPS 投与による小胞体ストレスへの影響について検討した。RAW 264.7 細胞にて、LysoPS 投与により、小胞体ストレスによる XBP-1 splicing の抑制がみられた。MPMs

では各群間で相違を認めなかった。

6. 今までに報告されている LysoPS 受容体(GPR34、P2Y10、A630033H20、GPR174) と G2A 受容体のすべてが RAW 264.7 細胞と MPMs の両方で発現していることを PCR 法にて確認した。LPS を投与しない RAW 264.7 細胞、LPS で活性化した RAW 264.7 細胞、LPS を投与しない MPMs で LysoPS 受容体の発現量をリアルタイム PCR 法にて調べた。LPS で活性化した RAW 264.7 細胞と LPS を投与しない MPMs は、LPS を投与しない RAW 264.7 細胞に比べて、P2Y10 と GPR174 の mRNA 量が有意に上昇していた一方で、GPR34 と G2A の mRNA 量は有意に低下していた。

以上の結果から、本論文は、LysoPS がマクロファージにおいて、泡沫細胞形成を促進する働動脈硬化作用を有する一方で、炎症に関しては抗動脈硬化作用をもつことを示唆した。本研究は、動脈硬化の病態生理における LysoPS の新しい作用の発見とともに、それぞれの LysoPS 受容体の生理学的役割の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。