

氏 名	お だ と も ゆ き 尾 田 知 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3049 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Activation of hypoxia-inducible factor 1 during macrophage differentiation (マクロファージの分化過程における低酸素誘導因子 HIF-1 の活性化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 生 田 宏 一 教 授 光 山 正 雄 教 授 長 澤 丘 司

論 文 内 容 の 要 旨

マクロファージは炎症反応において重要な役割を果たしている細胞であり、血管内を循環する単球から分化・成熟して炎症の場で機能を発揮する。単球からマクロファージへの分化に伴い、その代謝は酸化的リン酸化主体から解糖系主体へとシフトすることが従来の研究から明らかとなっているが、その分子基盤はこれまで明らかにされていなかった。

一方、炎症の場合は血管外でありその微細環境は低酸素状態である。生体には細胞レベルで自身がおかれている酸素分圧を感知し、遺伝子発現の調節を通して独自の低酸素応答を行う仕組みが存在する。Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) はこの応答において中心的な役割を担う転写調節因子である。HIF-1 はブドウ糖代謝酵素をはじめ血管新生、細胞増殖など様々な生理現象に関わる遺伝子発現を制御し細胞の機能維持に寄与している。HIF-1 は α サブユニット (HIF-1 α) と β サブユニット (HIF-1 β) からなるヘテロ二量体であり、酸素分圧の低下に反応してさまざまな種類の活性化を受けることが知られている。そしてこの活性化の機序として最も重要なものは、HIF-1 蛋白質の細胞内発現量の増加であることが明らかにされている。

本研究では HIF-1 がマクロファージの分化・成熟過程で重要な役割を担っている可能性に着目し、分化の過程において HIF-1 の活性化の状況を検討すると共にその分子機序、加えて生物学的な意義について研究した。本研究では、単球系の樹立細胞株である THP-1 細胞およびヒト末梢血から採取した単球において分化に伴う HIF-1 の活性化・下流遺伝子の発現について分子生物学的手法を用いて解析した。すなわち HIF-1 蛋白質の細胞内発現量をウエスタンブロット法で、HIF-1 の下流遺伝子の発現量は RT-PCR 法、レポーターアッセイで検討した。さらに単球からマクロファージへの分化が HIF-1 蛋白質の細胞内発現量に及ぼす影響、その機序についても検討した。

THP-1 細胞はホルボールエステル, all trans retinoic acid, 活性化ビタミン D3 のいずれの分化誘導刺激によっても表面抗原の発現量増加、接着能の獲得などを伴うマクロファージに分化し、分化に伴って HIF-1 蛋白質 (α , β サブユニットともに) の細胞内発現量および下流の遺伝子の発現量が増加した。ヒト末梢血より分離した単球においてもマクロファージへの分化に伴い HIF-1 蛋白質の発現亢進が認められた。分化による HIF-1 α 蛋白質の細胞内蓄積量増加の機序は低酸素による場合と異なり、HIF-1 α 蛋白質分解の亢進によるものではなく、主に HIF-1 α 蛋白質産生の亢進によるものであり、これは HIF-1 α mRNA の増加、転写活性の亢進および、mRNA からの翻訳亢進によることが THP-1 細胞を用いた実験によって明らかとなった。そして HIF-1 α 蛋白質産生に関与すると報告されている細胞内シグナル伝達分子の活性化状態の検討に加え、それらの阻害薬を用いた実験により、HIF-1 α mRNA の増加には PKC を介した系が、翻訳の亢進には PKC および MEK-ERK を介した系が関与していることが明らかとなった。さらには HIF-1 の活性化はマクロファージの活性化に伴う解糖系主体のエネルギー産生において必須の役割を果たしていることをも明らかにした。

マクロファージは炎症の場つまり、低酸素・低グルコースの環境下で機能する細胞であり、このような環境に適応するための分子学的機序として HIF-1 の活性化が関与している可能性が本研究の結果により示唆された。

論文審査の結果の要旨

Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) は細胞の低酸素応答において中心的な役割を担う転写調節因子である。HIF-1 はマクロファージにおける解糖系代謝，細菌の殺菌能，凝集能，遊走能，侵襲能といった重要な機能に必須であることがすでに明らかにされている。本研究は単球系の細胞株 THP-1 細胞およびヒト末梢血由来の単球・マクロファージにおいてその分化・成熟の過程において，HIF-1 α 蛋白質と HIF-1 β 蛋白質の発現亢進を伴い，HIF-1 が活性化されることを初めて示した。分化に伴う HIF-1 活性化の分子的機序は低酸素性誘導の場合と異なり，HIF-1 α 蛋白質分解の抑制によるのではなく，mRNA の産生亢進と翻訳の亢進による HIF-1 α 蛋白質の産生亢進によることが THP-1 細胞を用いた実験により明らかにされた。一方 siRNA を用いた実験により，HIF-1 はマクロファージの分化には必須でないことが示唆された。以上の結果から，マクロファージが炎症の場という低酸素・低グルコースの環境に適応し，十分な機能を発揮するための分子的機序として，HIF-1 は重要な役割を果たしていると考えられる。本論文はマクロファージが深く関わる病態，例えば癌の血管新生，動脈硬化の進展などの原因解明および治療への応用に寄与するところが大きい。したがって，本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，本学位授与申請者は，平成19年1月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け，合格と認められたものである。