

京都大学	博士（医学）	氏 名	小島 洋児
論文題目	Progranulin Expression in Advanced Human Atherosclerotic Plaque (進行したヒト動脈硬化巣における progranulin の発現)		
(論文内容の要旨)			
Progranulin(PGRN)は7個半の granulin ペプチド(GRNs)が直鎖状に連なったタンパクで、創傷治癒において重要な役割を担っていることが近年報告された。PGRN は抗炎症作用の他に、細胞増殖作用も持つ。一方で、好中球プロテアーゼによって granulin ペプチドに分解されると、反対に催炎症作用をもたらすことが知られている。 創傷治癒で見られるような、傷害、炎症、修復、といった過程は、動脈硬化の進展に大きく関わっていることが知られており、PGRN が動脈硬化の進展に対しても重要な作用を担う可能性があり、今回、その発現や作用について検討した。 まず実際の動脈硬化巣において PGRN の産生細胞を確認した。ヒトの頸動脈内膜剥離術で採取されたサンプルを用いて、免疫染色を行ったところ、血管平滑筋細胞、中でも中膜や線維被膜の平滑筋でなく、内膜内にある平滑筋細胞での発現を認めた。また、同様に内膜内のマクロファージも一部 PGRN を発現していた。 動脈硬化の進展に際して、マクロファージの内膜への浸潤、平滑筋の内膜内への遊走は重要な過程の一つである。そこで、これらの細胞に対する PGRN の作用について実験を行った。単球／マクロファージはヒト単球性白血病細胞 THP-1 を、平滑筋細胞としては Human Arterial Smooth Muscle Cell(HASMC)を用いた。まず、上記の細胞を用いて migration assay を行ったところ、THP-1 細胞、HASMC とも PGRN 単独ではほとんど変化を認めなかった。しかし、THP-1 細胞を Monocyte Chemotactic Protein-1 と PGRN とで刺激した際には、PGRN の濃度依存性に遊走細胞数は減少した。逆に HASMC を Tumor Necrosis Factor(TNF)-αと PGRN とで刺激した際には、10nM の容量では遊走細胞数は増加したが、それ以上の濃度では増加は認めなかった。単球の遊走に関しては、PGRN は阻害的に作用することが確認できた。 次に、動脈硬化巣において Interleukin-8(IL8)は内皮細胞や平滑筋細胞、単球の遊走を促し、病変の進展にかかわることが知られているため、平滑筋細胞における PGRN-GRNs の IL-8 分泌に対する影響を評価した。まずレンチウィルスを用いて PGRN を過剰発現する系と、RNAi を用いてノックダウンする系を作成した。これらを用いて HASMC の PGRN の発現を変化させると、PGRN 過剰発現では TNF-α刺激下の IL-8 分泌を抑制し、PGRN ノックダウンでは TNF-α刺激下の IL-8 分泌を促進した。さらに、分泌された PGRN の影響を評価するために、リコンビナント PGRN を作成し、PGRN 単独、あるいは好中球エラスターゼにより GRNs に切断したものと HASMC を刺激した。その結果、PGRN は TNF-α刺激下の IL-8 分泌を抑制し、GRNs では TNF-α刺激下の IL-8 分泌を促進した。 これらの結果から、①ヒト動脈硬化病変では内膜内の平滑筋とマクロファージが PGRN を発現していること。②単球に対しては、PGRN は遊走に抑制的に働くこと。③平滑筋細胞に対しては、IL-8 分泌制に働くこと。④PGRN が GRNs に切断されると IL-8 分泌を増強する方向に作用することが判明した。従って、PGRN- GRNs は動脈硬化の進展に影響を及ぼしうることを示した。			

(論文審査の結果の要旨) Progranulin は創傷治癒において重要な役割を持つタンパクである。動脈硬化の進展においても、炎症と組織修復という点で創傷治癒と同様に progranulin が関わっていると考えられ、申請者はヒトの動脈硬化病変での発現と作用機序を検討した。 この目的で、①ヒト動脈硬化病変で免疫染色を行い、粥腫内膜内の平滑筋細胞とマクロファージが progranulin を発現していること、さらに、培養細胞系で、②単球に対して progranulin は遊走を抑制に作用することを確認した。また、③平滑筋細胞に対しては、progranulin を強発現した場合も、外部からの progranulin 刺激でも、IL-8 分泌の点で抑制的に働くこと、④さらに progranulin が granulin に切断されると、逆に IL-8 分泌を増強することが判明した。 これらの結果から、progranulin はヒト動脈硬化巣において発現されており、単球遊走及び IL-8 分泌を介して、 prigranulin-granulin が動脈硬化の発展過程に影響を及ぼしうる可能性が示された。 以上の研究で、申請者はヒトの動脈硬化病変で progranulin の発現を初めて明らかにし、動脈硬化進行における病態的意義について解析を行った。このように動脈硬化に対する新規分子の関与を指摘した点において新たな機序解明の糸口として寄与するところが多い。 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 21 年 3 月 4 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			