

氏 名	にし 西 英 一 郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1905 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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	Lysophosphatidylcholine increases expression of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in human T-lymphocytes (リゾフォスファチジルコリンはヒト T リンパ球におけるヘパリン結合性表皮増殖因子様増殖因子の発現を増加する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 淀 井 淳 司 教 授 篠 山 重 威 教 授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

動脈硬化巣には単球・マクロファージのみならず多数の活性化された T リンパ球 (TL) が存在することが知られている。それらが分泌するサイトカイン, 増殖因子は動脈硬化進展調節において重要な役割を果たしていると考えられているが, 病巣の TL が活性化される機序についてはよくわかっていない。リゾフォスファチジルコリン (lyso-PC) は LDL の酸化変性の過程で著明に増加する様々な活性を持つリン脂質であり, 動脈硬化巣における増加も確認されている。培養血管内皮細胞, 単球において, lyso-PC が接着分子, 平滑筋増殖因子など様々な遺伝子発現を誘導することが明らかになっており動脈硬化進展への関与が示唆されている。このリン脂質が TL のサイトカイン, 増殖因子の発現誘導にも関与しているのではないかという仮説に基づき実験を行った。

ヒト末梢血 TL は抗 CD3 抗体固着フラスコへの直接パニング法にて分離し, IL-2 及び 20% 牛胎児血清添加培地にて 1 週間培養後, 実験に用いた。5 % 牛胎児血清添加培地にて lyso-PC は容量依存性 (25—75 μ M) にヘパリン結合性表皮増殖因子様増殖因子 (HB-EGF) のメッセンジャー RNA (mRNA) を著明に増加させ, その時間経過は刺激後 6 時間をピークとし 24 時間後まで持続した。Lyso-PC はインターフェロンガンマ (IFN- γ), インターロイキン-2 レセプター (IL-2R) の遺伝子発現も増強したが, IL-2, IL-4 の発現誘導には全く効果がなく, 従来より知られているフォルボールエステルおよびカルシウムイオノフォアなどによる普遍的な TL の活性化とは性質を異とした。次に HB-EGF mRNA の半減期に対する lyso-PC の効果を検討したところコントロール細胞における半減期は約 45 分であったが, lyso-PC で刺激した細胞における半減期は約 3 時間であり, lyso-PC は HB-EGF mRNA の半減期を有意に延長した。Lyso-PC はヒト T 細胞株 ジャーカット細胞においても HB-EGF の遺伝子発現を増強したが, 時間経過は末梢血 TL とは異なり, 刺激後 16—24 時間をピークとした。蛋白レベルにおいても, EGF レセプター強発現細胞を用いた増殖アッセイにて, lyso-PC による培地中への HB-EGF 分泌の増加を確認

した。HB-BGF は膜結合蛋白として生成された後にプロセッシングを受けて分泌型となる。膜結合型 HB-EGF に対する lyso-PC の効果をフローサイトメトリーにて検討したところ、末梢血 TL では有意な増加を認めず、生成された HB-EGF が全て分泌されていることが示唆された。一方ジャークット細胞においては lyso-PC による膜結合型 HB-EGF の増加を認め、両細胞におけるプロセッシング機構に差異があることが示唆された。フローサイトメトリーでの検討にて、約半数の細胞が lyso-PC に反応して IL-2R を発現することが明らかとなり、lyso-PC の TL に対する効果は多クローン性であることが推測された。Lyso-PC の遺伝子発現に対する効果は実験培地から IL-2 を除くとほぼ消失し、IL-2 など他の活性物質の共存がその効果発現に必要であると考えられた。最後に TL サブセットに対する lyso-PC の効果を検討したところ、IL-2R、IFN- γ は CD4、8 両サブセットにおいて同等にその発現を増強したが、HB-EGF は CD4 サブセットにおいてのみ、その効果を認めた。

以上より lyso-PC が、TL の機能調節に深く関わっている可能性が示唆された。lyso-PC の効果発現のメカニズムの解明は今後の課題であり、動脈硬化発生機構の解明に大きく寄与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

動脈硬化巣には多数の活性化された T リンパ球が存在し、それらが分泌するサイトカイン、増殖因子は動脈硬化進展調節において重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では LDL の酸化変性の過程で著明に増加するリン脂質であるリゾフォスファチジルコリン (lyso-PC) の T リンパ球の機能調節に対する効果を検討した。ヒト末梢血 T リンパ球にて lyso-PC は容量および時間依存性にヘパリン結合性表皮増殖因子様増殖因子 (HB-EGF)、インターロイキン 2 レセプター (IL2R) の遺伝子発現を増強したが、IL-2、IL-4 の発現誘導には効果がなかった。Lyso-PC は培地中への HB-EGF の分泌および細胞表面上の IL2R の発現を増加した。Lyso-PC の遺伝子発現に対する効果は実験培地から IL-2 を除くとほぼ消失した。IL-2R は CD4、8 両サブセットにおいて同等にその発現を増強したが、HB-EGF は CD4 サブセットにおいてのみ、その効果を認めた。

以上より lyso-PC が T 細胞の機能調節に深く関わっている可能性が示唆された。

この研究は動脈硬化の発症進展機序の解明に貢献し、動脈硬化性疾患の治療に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して認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 9 年 2 月 21 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。