

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	山本 寛
論文題目	単球のマクロファージへの分化におけるリゾスフィンゴ脂質の機能に関する研究		
（論文内容の要旨）			
スフィンゴ脂質は、グリセロ脂質やコレステロールと共に細胞膜を構成するばかりでなく、細胞増殖、分化、接着、アポトーシス等の細胞内シグナル伝達に関与することが明らかになってきたが、その機能は十分に解明されていない。リゾスフィンゴ脂質の一つであるスフィンゴシン1リン酸（S1P）は、その機能の解明や受容体の同定など、盛んに研究がなされている。しかし、同じリゾスフィンゴ脂質であるスフィンゴシルフォスフォリルコリン（SPC）及びリゾスルファチド（LSF）の機能については、ほとんど明らかにされていない。そこで、本研究では単球のマクロファージへの分化におけるSPC、LSF及びS1Pの機能について解析した。 まず、12-0-Tetradecanoylphorbol 13-acetate（TPA）による単球系細胞のマクロファージへの分化に対するSPC、LSF及びS1Pの影響を検討した。マクロファージの分化には、免疫を活性化するM1マクロファージと、免疫を抑制するM2マクロファージの2種類が存在する。M1マクロファージへの分化をSPCは促進し、LSFは阻害していた。そして、その作用は古典的MAPキナーゼ経路であるRaf/MEK/ERK経路を介していることを明らかにした。血流中の単球は、血管内皮細胞と接着し、血管内皮下へと遊走・浸潤してマクロファージへと分化する。そこで、SPC及びLSFが、分化過程の接着や遊走にも関与しているのではないかと考え、単球系細胞の接着に対するSPC及びLSFの作用を検討したところ、ホスファチジルイノシトール3キナーゼ（PI3K）/Akt経路をSPCは活性化することにより接着を促進し、LSFはPI3K/Akt経路の活性化を抑制することにより接着を阻害することが明らかになった。さらに、SPCにはRhoキナーゼを介した単球系細胞の遊走作用があることを明らかにした。 次に、SPC及びLSFの活性が、どのような標的に作用して認められるものであるかを明らかにするため、SPC及びLSFの受容体探索を行った。その結果、SPCやLSFの受容体として報告されているスフィンゴシン1リン酸（S1P）受容体には作用しておらず、SPCがGi及びGqタンパク質と共役しているGタンパク質共役型受容体（GPCR）に作用し、一方、LSFはGPCRには作用しない可能性があることを明らかにした。さらにRNA干渉による検討から、SPCがG2Aに作用している可能性が示唆された。 以上、本研究により、単球のマクロファージへの分化を、SPCはRaf/MEK/ERK経路及びPI3K/Akt経路を活性化することにより促進し、一方、LSFはそれらシグナル伝達経路の活性化を抑制することにより阻害していることが明らかになった。また、G2AがSPCの受容体である可能性が示唆された。			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

スフィンゴ脂質は、グリセロリン脂質やコレステロールと共に細胞膜を構成するばかりでなく、細胞増殖、分化、接着、アポトーシス等に関与することが明らかになってきたが、詳細な機構については十分に解明されていない。近年、HDL中にスフィンゴシルフォスホリルコリン (SPC) やリゾスルファチド (LSF) などのスフィンゴ脂質が含まれていることが報告された。HDLは粥状動脈硬化症における粥腫形成に対して抑制的に働くことが知られているが、HDLに含まれるこれらのスフィンゴ脂質の粥状動脈硬化症に対する影響は明らかにされていない。そこで申請者は、粥状動脈硬化症の進行に重要な役割を果たしているマクロファージの活性化を指標にしてこれらのスフィンゴ脂質の影響を調べた。

まず申請者は、CD11bの発現を指標にして単球系細胞のマクロファージへの分化に対する影響を見たところ、SPCは促進的に、LSFは抑制的に作用することを見出した。さらに、SPC及びLSFの作用は、古典的MAPキナーゼ経路であるRaf/MEK/ERK経路を介していることを明らかにした。血流中の単球は、血管内皮細胞と接着し、血管内皮下へと浸潤してマクロファージへと分化する。そこで、SPC及びLSFが、分化過程の接着や遊走にも関与しているのではないかと考え、単球系細胞の接着に対するSPC及びLSFの作用を検討したところ、PI3K/Akt経路をSPCは活性化することにより接着を促進し、LSFはPI3K/Akt経路の活性化を抑制することにより接着を阻害することを明らかにした。

次に申請者は、SPC及びLSFの活性が、どのような標的に作用して発揮されるものであるかを明らかにするため、SPC及びLSFの受容体探索を行った。その結果、SPCやLSFの受容体として既に報告されているスフィンゴシン1リン酸受容体は関与しないことが明らかになった。さらに検討を加えたところ、SPCはGi及びGqタンパク質と共役しているGタンパク質共役型受容体 (GPCR) に作用し、一方、LSFはGPCRには作用しない可能性があることを明らかにした。SPCの受容体について詳細に調べた結果、受容体の一つはGPCRの一種であるG2Aである可能性が示唆された。

以上、本研究は、HDLに含まれるSPCおよびLSFの、単球のマクロファージへの分化に対する影響を調べたものであり、粥状動脈硬化症に対するHDLの役割について新たな知見を与えたものである。

よって本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成24年1月30日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日