

論文要旨

氏名	谷口 広祐
論文の要旨 <p>【目的】近年、細胞の代謝においてリゾリン脂質アシル転移酵素群(以下 LPLATs)の分子が同定され、血小板活性化因子をはじめとする炎症性脂質メディエーター産生および細胞膜主成分であるリン脂質合成の調節を司る酵素であることが解明されてきた。LPLATs ファミリーの1つであるリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素 (以下 LPCATs) は4種類存在し、この LPCATs による細胞膜脂質の変化により、細胞の性質や機能も変化することが知られている。マクロファージは LPS 刺激により炎症性サイトカインやケモカインを産生し炎症を惹起させる M1-polarized macrophages (以下 M1) と、IL-4 刺激により抗炎症性サイトカインを産生し組織修復や血管新生を行う M2- polarized macrophages (以下 M2) の2種に分化することが知られている。この M1 および M2 の分化のメカニズムについては様々な報告がなされているが、未だ完全に解明されていない。本研究では、マクロファージの M1 および M2 分化過程における LPCATs の関わりについて検討した。【方法】ヒト単球系細胞株 U937 細胞を PMA で処理し、さらに LPS あるいは IL-4 で刺激した後、細胞の形態を観察した。M1 および M2 の分化マーカーおよびアシル転移酵素群の遺伝子発現とタンパク発現を qRT-PCR、Western blot、ELISA で確認した。あわせて、リポフェクタミンを用いて LPCATs 遺伝子の1つである LPCAT3 をノックダウンさせ、M1 および M2 分化マーカーの確認を行った。細胞膜の脂質組成は液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計を用いて細胞膜リン脂質の解析を行った。【結果】PMA 処理後の LPS 刺激で、細胞の形態が紡錘形に変化し、M1 マーカーである CXCL10 の遺伝子発現及びタンパク発現を認められた。一方、PMA 処理後の IL-4 刺激は円形を示し、M2 マーカーである CD206 の遺伝子発現及びタンパク発現が認められた。これらの細胞を用いて LPCATs の遺伝子発現及び LPCAT 酵素活性を確認したところ LPCAT3 が有意な差を認めた。LPCAT3 siRNA を用いて LPCAT3 を遺伝子ノックダウンしたところ、コントロール細胞と比べ紡錘形をした細胞が多数出現した。さらに、LPCAT3 遺伝子ノックダウン後に IL-4 刺激を行ったところ、CXCL10 の産生は亢進し、CD206 のタンパク発現の抑制が起きることが確認された。【考察】LPCAT3 の発現の違いが M1 および M2 の分化過程において影響を及ぼしていた。一般的には、LPCAT3 は小胞体膜に局在していると考えられており、細胞膜脂質組成に変化はなかったことから、今後、LPCAT3 が小胞体膜上に局所的にどのような機能を発現しているか検討が必要と考えている。</p>	

