

論文審査結果報告書

論文提出者氏名 谷口 広祐

学位論文題目：Essential role of lysophosphatidylcholine acyltransferase 3 in the induction of macrophage polarization in PMA-treated U937 cells

（PMA 処理した U937 細胞のマクロファージ誘導におけるリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素 3 の役割について）

審査委員	（主査）教授	竹内 弘	印
	（副査）教授	秋房 住郎	印
	（副査）准教授	古株 彰一郎	印

論文審査結果の要旨

近年、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、細胞の代謝において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。一方、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。本研究で谷口広祐氏は、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。

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質発現を qRT-PCR、Western blot、ELISA で確認した。また、LPCATs の 1 つである LPCAT3 遺伝子を siRNA を用いてノックダウンし、M1 および M2 分化マーカーの発現を確認した。細胞膜のリン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解析した。

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 の遺伝子及びタンパク質の発現を認めた。一方、PMA 処理後の IL-4 刺激では、細胞は円形を示し、M2 マーカーである CD206 の遺伝子及びタンパク質を発現していた。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 において有意な差を認めた。そこで LPCAT3 の遺伝子を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 分泌が亢進し、CD206 のタンパク質発現が抑制されることを確認した。

以上の結果は、M1 および M2 への分化過程に LPCAT3 の発現の違いが大きな役割を果たしていることを示唆しており、マクロファージの分化調節の機序を解明する上で非常に意義深い。

本研究内容に関し、申請者の谷口広祐氏に対して、主査と 2 名の副査から、LPCATs ファミリーの発現量や組織分布、小胞体膜に局在する LPCAT3 は細胞膜脂質組成には影響せずどのような作用を果たすのか、LPCAT3 ノックダウンにより他の LPCATs 発現に変化がなかったか等に加えて実験手法についても詳細な質問をしたが、概ね適切な回答が得られた。総じて、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。