



Title	LPSとIL-4の共刺激により誘導されるマクロファージの機能解析
Author(s)	石田, 湊
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/101947">https://doi.org/10.18910/101947</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 石田 溪 )	
論文題名	LPSとIL-4の共刺激により誘導されるマクロファージの機能解析
論文内容の要旨	
<p>マクロファージは腸管・肺・皮膚などほぼ全ての組織に存在し、細菌やウイルスなどの病原微生物を貪食して排除するだけでなく、炎症反応の促進と収束、組織の線維化などに深く関与する。特に、近年の研究から、その性質は画一的なものではなく、周囲の環境に応じて機能を変化させることが明らかにされている。これまでの多くのin vitro研究は、菌体成分であるリポポリサッカライド (LPS) により誘導される炎症型 (M1)マクロファージと、IL-4により誘導される抗炎症型 (M2)マクロファージの2つに大別されるものが主流であった。しかしながら、複雑多様な組織微小環境を想定すると、M1とM2マクロファージの概念だけで生体内の免疫応答を十分に理解することは困難である。例えば、M1とM2マクロファージの誘導に使用されるLPSとIL-4だけを考えても、アレルギー患者に細菌感染が起こった場合には、アレルギー誘導に関わるIL-4とLPSが共存する組織環境が想定され、その場に存在するマクロファージは共刺激を受ける可能性が考えられる。そこで、LPSとIL-4で共刺激したマクロファージ (LPS/IL-4マクロファージ) の機能多様性について明らかにすることを目的に本研究を行った。</p> <p>顕微鏡で細胞形態を観察したところ、未刺激 (M0) マクロファージに比べて、M1マクロファージは丸い輪郭を帯びており、M2マクロファージは両端から突起が伸びている一方で、LPS/IL-4マクロファージは、M1マクロファージと同様に全体的に丸い輪郭を帯びつつ、一部の細胞で樹状突起が認められた。また、フローサイトメトリー解析から、LPS/IL-4マクロファージは異なる細胞表面抗原発現パターンを示さず、均一な細胞集団であることが判明した。M1マクロファージで発現誘導が認められるMHC IIは、LPS/IL-4マクロファージでさらに発現が促進される一方、同じくM1マクロファージで発現誘導が認められる誘導型一酸化窒素合成酵素の発現は抑制された。また、M1マクロファージで発現誘導が認められる<i>Tnf α</i>や<i>Il12p40</i>の遺伝子発現は、LPS/IL-4マクロファージにおいて、M0マクロファージと同等レベルまで低下することが分かった。M2マクロファージで発現誘導が認められるCD206は、M2マクロファージに比べて、LPS/IL-4マクロファージは発現が低下することが分かった。また、同じくM2マクロファージで発現誘導が認められる遺伝子<i>Arg1</i>は、LPS/IL-4マクロファージでさらに発現が増加し、その発現制御に<i>Socs1</i>や<i>Stat3</i>の関与が示唆された。さらに、LPS/IL-4マクロファージは、M2マクロファージで発現誘導が認められる<i>Chi3l3</i>の発現が同等レベルであることや、<i>Fizz1</i>の発現が全く認められないことから、本細胞はM1やM2マクロファージのどちらかに偏らず、分子ごとに遺伝子発現パターンが異なることが分かった。LPS/IL-4マクロファージの細胞内シグナル伝達について、Western blot解析を行ったところ、M1マクロファージにおいてLPSにより活性化されるNF-κB経路のシグナル分子p65のリン酸化や、M2マクロファージにおいてIL-4により活性化されるSTAT6のリン酸化が認められた。一方で、LPSにより活性化されるSTAT1のリン酸化レベルは、M1マクロファージに比べてLPS/IL-4マクロファージで低下することが分かった。さらに、LPS/IL-4マクロファージは、M1マクロファージと同様に解糖系依存的に貪食活性を増加させる一方で、M1マクロファージで優位な解糖系と、M2マクロファージで優位な酸化的リン酸化の両経路を同時に活性化させることが分かった。</p> <p>これらのことから、LPS/IL-4マクロファージは、M1やM2マクロファージとは異なる独自の性質を示す細胞であることが明らかになった。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 石 田 溪 )			
論文審査担当者	(職) 氏 名		
	主 査	招へい教授	國澤 純
	副 査	教授	近藤 昌夫
	副 査	教授	齊藤 達哉

## 論文審査の結果の要旨

本論文においては、マクロファージの多様性に関する従来のM1/M2分類の限界を踏まえ、LPSおよびIL-4による同時刺激で誘導されたマクロファージ（LPS/IL-4誘導マクロファージ）の特性を解析した。LPS/IL-4誘導マクロファージは、M1およびM2マクロファージの特性を併せ持つ均一な集団であり、細胞表面マーカーや遺伝子発現パターンにおいて、従来のM1およびM2マクロファージと異なる特徴を示した。特に、M1マクロファージと比較してI-Abの発現が高い一方で、iNOSやM1関連遺伝子（ $\text{Tnf } \alpha$ ,  $\text{Il12p40}$ ）の発現が低下していた。また、M2マクロファージと比較すると、CD206の発現が低く、M2関連遺伝子（ $\text{Arg1}$ ,  $\text{Chi3l3}$ ,  $\text{Fizz1}$ ）の発現はそれぞれ異なるパターンを示した。さらに、LPS/IL-4誘導マクロファージは、M1マクロファージと同様に解糖系依存的な高い貪食活性を示したが、解糖系および酸化的リン酸化の活性状態はM1およびM2マクロファージとは異なっていた。以上の結果から、LPSおよびIL-4の同時刺激により誘導されるマクロファージは、従来のM1/M2分類に当てはまらない独自の性質を持つことが示された。

本研究は、マクロファージの多様性に関する新たな視点を提供し、免疫応答の理解を深める重要な知見を示している。研究の独創性と学術的価値を高く評価し、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。