



Title	Expression of the Apolipoprotein E Gene in a Human Macrophage-Like Cell Line, THP-1
Author(s)	毛受, 正和
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37375">https://hdl.handle.net/11094/37375</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	めん 毛	じゅ 受	まさ 正	かず 和
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 3 7 5	号	
学位授与の日付	平	成	2 年 10 月 5 日	
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Expression of the Apolipoprotein E Gene in a Human Macrophage-Like Cell Line, THP-1 (ヒト単球マクロファージ細胞株, THP-1におけるアポE遺伝子の発現調節)			
論文審査委員	(主査) 教授	垂井清一郎		
	(副査) 教授	田中 武彦	教授	鎌田 武信

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

アポリポタンパク質E (アポE) はトリグリセリドに富むリポタンパク質の代謝に関与すると共にマクロファージ等の末梢組織から肝臓へのコレステロールの逆転送系に大きな役割を果たすと考えられている。最近マクロファージが分化と共にアポEを分泌することが明らかとなったが, 本研究ではマクロファージ系の培養細胞THP-1を用い, その分化に伴うアポE遺伝子の発現について検討した。またマクロファージを活性化し, リポタンパク代謝にも影響するリポ多糖(LPS)によるアポE遺伝子の発現調節について検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

THP-1細胞は牛胎児血清5%を含むRPMI1640培地にて継代培養し, 12-o-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) 50ng/mlを培地中に添加することによりマクロファージ化させた。RNAはグアニジンチオシアネート法により抽出した。アポE,  $\beta$ -actin cDNAをマルチプライミング法により $^{32}$ Pで標識しプローブとして用い, ノーザンブロットを施行した。 $\beta$ -actinを内部標準とし, アポEmRNAとそれに対する比をもとめアポEmRNA発現量の変化を見た。また細胞を $^{35}$ Sメチオニンを含むメチオニン不含MEM培地にて2~5h培養後, 細胞内外のアポEを抗アポE抗体にて免疫沈降しSDS電気泳動を行い, フルオログラフィー後 デンシトメトリーにより定量した。培地中にリポ多糖(LPS), さらにインターロイキン1 (IL-1)  $\alpha$ ,  $\beta$ , 腫瘍壊死因子(TNF), を添加しアポEmRNAの発現とタンパクの合成に与える影響も検討した。

THP-1細胞はTPA添加前は単球様の浮遊細胞であるが添加後15分位でディッシュに付着し始め1日後にはほぼすべての細胞が付着する。4日後にはアメーバー状のマクロファージ様細胞へと形態を変え8日後にはさらに大きくなる。アポEmRNA比含量はTPA添加2日後に最大となり添加前の100倍以上の値を示した。その後約1/2に減少し4日後以降ほぼ一定となった。5時間のインキュベーションにより合成、分泌されるアポEタンパク質量も2日目で最大となりmRNAの経時変化とほぼ同様の動きを示した。分化後のTHP-1細胞の培地に0.05~50 µg/mlの濃度のLPSを加え12h培養すると5 µg/mlのLPSによりアポE合成は約60%抑制された。同条件でmRNAの変化を見ると、5 µg/mlのLPS濃度でmRNA比は約50%抑制されアポEタンパク質合成の抑制量と良く一致した。分化4日後のTHP-1細胞の培地中にTNF (15 ng/ml, 0.9nm, 300 IU), IL-1α (5 IU/ml), IL-1β (5 IU/ml)をそれぞれ加え12h培養しアポEmRNA量とタンパク合成量をみると両サイトカインにより影響を受けず、LPSによる抑制はこれらサイトカインを介しているのではないことがわかった。

#### [総括]

ヒト単球マクロファージ細胞株THP-1において、分化と共にアポEmRNAの発現量は著しく増加し、その増加量はアポEタンパクの合成、分泌量と比例した。またアポEmRNA量、タンパク合成、分泌量ともにTPA添加2日後に最大となり、4日目以降最大時の約1/2で一定となる同様の経時変化を示した。LPSはアポEmRNA、タンパク合成量とも1/2に減少させたが、この抑制はIL-1α, β, TNF等のサイトカインを介して起こるものではないことが明らかとなった。以上より、アポEmRNAの発現は単球細胞のマクロファージ化と密接に関連すること、及びマクロファージの活性化を促すLPSの添加に伴い抑制されることが明らかとなり、この結果はアポEを介したコレステロール逆転送系の解明において重要な知見となると思われる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はヒト単球マクロファージ細胞株THP-1を用いて、その分化及び活性化とアポE合成との関連を遺伝子レベルで検討したものである。phorbol esterによるマクロファージへの分化とともにアポE遺伝子の発現量は著しく増加し、その増加量はアポEタンパクの合成量および分泌量と比例し、またこれら三者の経時変化も平行した動きを示した。リポ多糖添加による活性化により、アポEmRNA、タンパク合成量ともに減少したが、これらはIL-1-α, -β, TNF等のサイトカインを介していないことが示された。以上より、アポEの合成及びmRNAの発現は単球細胞のマクロファージへの分化と密接に関連すること、及びマクロファージの活性化に伴い抑制されることが明らかとなった。この結果はアポE遺伝子の発現調節に関して重要な知見を加えるものであり、学位に値するものと考えられる。