

Title	核内転写因子PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用に関する研究 : PAF-AH発現を中心に
Author(s)	角田, ちぬよ
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/45667
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	すみた おやま ちぬよ 角田 (小山) ちぬよ
博士の専攻分野の名称	博士 (臨床薬学)
学位記番号	第 19437 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	核内転写因子 PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用に関する研究 —PAF-AH 発現を中心に—
論文審査委員	(主査) 教授 東 純一 (副査) 教授 前田 正知 教授 馬場 明道 教授 土井 健史

論文内容の要旨

近年、動脈硬化症、特にアテローム性 (粥状) 硬化症は、虚血性心疾患や脳血管障害などの致死的な循環器疾患を引き起こす主要な疾病と考えられている。動脈硬化症における血管内壁のプラーク形成は、血管内皮細胞が傷害または活性化されることにより、血液中の単球細胞が内皮へ接着し、形態を変化させて血管内皮下への侵入すること (遊走) により始まるとされている。Platelet-activating factor (PAF) は脂質メディエーターとして働くリン脂質であり、好中球、好酸球の血管内皮細胞への遊走を惹起し、動脈硬化を促進することが報告されている。今回、PAF の動脈硬化作用について、マクロファージの形態変化および遊走誘導の点に着目して検討を行った。ヒト単球由来の細胞種である THP-1 細胞に phorbol 12-myristate 13-acetate を添加しマクロファージへと分化させ、トランスチャンパーを用いて PAF による遊走実験を行った。PAF 添加によりコントロールに比べて約 2 倍数のマクロファージが遊走し、PAF による遊走誘導が確認された。次に、マクロファージに PAF を添加し、アクチン骨格を染色して、蛍光顕微鏡でマクロファージの形態変化を調べた。その結果、PAF 添加 5 分後にはその形態は丸型から伸長した形へと変化し、15~60 分において変化が継続した。以上のことより、PAF はマクロファージの形態変化および遊走亢進を誘導することが明らかとなった。マクロファージの形態変化および遊走の亢進は動脈硬化の始まりを示しており、PAF の動脈硬化作用が示唆された。

次に、PAF による形態変化のメカニズムについての検討を行った。細胞の形態変化に関しては、細胞内の低分子 GTP 結合蛋白の一種である Rho ファミリー蛋白、中でも RhoA、Rac1、Cdc42 の活性化が重要であると報告されている。そこで、PAF によるマクロファージの形態変化と RhoA、Rac1、Cdc42 の活性化との関連を検討した。PAF による形態変化誘導は、Rho ファミリー蛋白の活性化を阻害する Rho GDI 導入により抑制され、Rho ファミリー蛋白の活性化が不可欠であることが明らかとなった。また、Rho ファミリー蛋白の RhoA と Cdc42 の活性が、PAF 添加により上昇していることが判明した。さらに、各 Rho ファミリー蛋白の抑制型変異体を導入し形態変化を検討したところ、RhoA と Cdc42 の抑制型変異体導入により、PAF 依存性の形態変化が抑制されることが明らかとなった。これらのことより、PAF による形態変化誘導は Rho ファミリー蛋白の中でも RhoA と Cdc42 の活性化が不可欠であることが示唆された。

PAF の分解系酵素である Plasma PAF-acetylhydrolase (PAF-AH) は主にマクロファージで産生され、血中のリ

が蛋白と結合して体内を循環している。PAF-AH の血中濃度の変動と様々な血管疾患との関連も報告されている。また、遺伝子変異により PAF-AH の酵素活性が欠失しているヒトでは、循環器系疾患発症のリスクが高くなっていることが示されている。一方、核内転写因子 peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) は種々の蛋白合成を遺伝子レベルで制御する核内レセプタースーパーファミリーである。PPAR γ は PPAR γ リガンドによる活性化を経て、様々な遺伝子発現を制御することで、蛋白発現とその作用を調整していると考えられており、これらの作用の一つに動脈硬化抑制作用が示されている。この動脈硬化抑制作用に PAF-AH が関与している可能性について検討した。その結果、PPAR γ リガンドである pioglitazone および 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J₂ (15d-PGJ₂) はマクロファージにおける PAF-AH の mRNA および蛋白を誘導することが明らかとなった。Pioglitazone による PAF-AH mRNA の誘導は、PPAR γ の競合的阻害剤である prostaglandin F_{2 α} (PGF_{2 α}) をあらかじめ添加することにより阻害された。このことから、PPAR γ リガンドによる PAF-AH 誘導が PPAR γ の活性化を介していることが明らかとなった。

次に、PPAR γ リガンドにより誘導された PAF-AH が PAF を加水分解し、PAF の動脈硬化作用を抑制しているか否かを調べることにより、PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用を検討した。その結果、PAF 添加 48 時間前に pioglitazone で処理することで、PAF により引き起こされるマクロファージ細胞の形態変化誘導が抑制された。また、PAF-AH により加水分解されない PAF アゴニストである C-PAF を用いて、PAF-AH による加水分解反応が PAF の形態変化誘導を抑制していることを明らかにした。さらに、あらかじめ PGF_{2 α} を添加する事で、pioglitazone が示した PAF により誘導されるマクロファージの形態変化抑制は、阻害され PPAR γ -PAF-AH 経路による形態変化抑制作用が示された。Pioglitazone は、PAF により誘導されるマクロファージの遊走亢進も抑制することが明らかとなった。マクロファージの形態変化および遊走の誘導は動脈硬化促進作用であり、この誘導の抑制は PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用と考えられる。本研究で、PPAR γ -PAF-AH 経路による PPAR γ リガンドのマクロファージにおける形態変化および遊走の誘導抑制—動脈硬化抑制作用—を明らかにした。また、今回添加した pioglitazone 濃度は、投薬後の血中濃度範囲内であり、臨床的にも pioglitazone が動脈硬化抑制作用を示していることが示唆された。

以上のことより、PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用の一部が示され、今後の臨床への応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

近年、動脈硬化症は、虚血性心疾患や脳血管障害などの致死的な循環器疾患を引き起こす主要な疾病と考えられている。動脈硬化症における血管内壁のプラーク形成は、単球・マクロファージの形態変化および遊走により始まるとされているが、マクロファージの形態変化における詳細なメカニズムは明らかになっていない。また、核内転写因子である PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用が報告されているが、その作用機序については様々な報告がされている。

本研究では、脂質メディエーターである PAF によりマクロファージの形態変化が誘導されること、さらにその誘導が Rho ファミリー蛋白の RhoA と Cdc42 の活性化を介していることを明らかとした。さらに、PPAR γ リガンドの動脈硬化抑制作用機序として PAF-AH 誘導による PAF の加水分解作用を示した。これらのことから、マクロファージの形態変化におけるメカニズムを明らかとし、PPAR γ の動脈硬化抑制作用における新たな経路を解明した。

以上、マクロファージの形態変化における Rho ファミリー蛋白の活性化に関して、詳細なメカニズムを検討し、また、PPAR γ の動脈硬化抑制作用における新たな経路を解明したことは、高く評価される。本研究は動脈硬化症の発症予防と治療において貢献するものであり、博士の学位を授与するに相応しいと考える。