

Title	Increased lipid rafts and accelerated lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- $\alpha$ secretion in Abca1-deficient macrophages
Author(s)	小関, 正博
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47443">https://hdl.handle.net/11094/47443</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名 小 関 正 博

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20915 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 19 年 3 月 23 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科生体制御医学専攻

学 位 論 文 名 Increased lipid rafts and accelerated lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  secretion in Abca1-deficient macrophages (Abca1 欠損マクロファージにおける脂質ラフトの増加とリポ多糖類誘発性 Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  分泌反応の亢進)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 下村伊一郎

(副査)

教 授 堀 正二 教 授 金倉 譲

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

動脈硬化防御機構として、末梢組織よりコレステロールを引き抜き肝臓へと輸送するコレステロール逆転送系が重要であり、その第一段階として高比重リポ蛋白 (HDL) を介した動脈硬化巣に集簇する泡沫化マクロファージからのコレステロール引き抜き機構が想定されている。近年、早発性動脈硬化を来たすタンジール病の原因遺伝子として ATP-binding cassette transporter-1 (Abca1) が同定され、マクロファージの Abca1 欠損による脂質の引き抜き低下が細胞内に脂質を蓄積させ、動脈硬化を進展させるものと考えられている。一方、脂質ラフトは、コレステロールとスフィンゴリン脂質に富んだ構造で、細胞膜上でシグナル伝達等、様々な細胞機能のプラットフォームとして重要であることが知られている。今回、Abca1 欠損による脂質引き抜き低下が、細胞膜表面上の脂質ラフト形成や、ラフトに関連する細胞機能に与える影響について検討した。

### 〔 方法ならびに成績 〕

脂質ラフトを選択的に認識する新規プローブ 2 種類 (BC $\theta$ 、PEG-chol) を用い、Abca1 が欠損しているタンジール病患者単球由来マクロファージ及び Abca1 欠損マウス腹腔マクロファージを用いて脂質ラフトを可視化した。その結果、Abca1 が欠損したマクロファージでは、脂質ラフトが著しく増加することを明らかにした。タンジール病患者由来皮膚線維芽細胞でも脂質ラフトが増加していたが、アデノウイルスによる Abca1 遺伝子導入により、異常増加したラフトが正常化した。これらにより、脂質ラフトの増加は、Abca1 欠損に由来することが示唆された。

次にリポ多糖類 (LPS) 刺激によるサイトカイン分泌を検討したところ、Abca1 欠損マクロファージにおいて、TNF- $\alpha$  および IL-6 放出増加が認められた。さらに、NF- $\kappa$ B 活性、TNF- $\alpha$  mRNA、細胞内 TNF- $\alpha$  合成も Abca1 欠損マクロファージで有意に促進していた。これらの反応は、LPS 刺激後 1 時間以内の早期から有意な差が認められた。一方、脂質ラフトを改変する薬剤である cyclodextrin と nystatin でこれらの反応は抑制されたため、細胞膜上の脂質ラフト増加と TNF- $\alpha$  分泌亢進の関連が示唆された。

### 〔 総 括 〕

以上より、脂質引き抜きが欠損した Abca1 欠損マクロファージでは、細胞内脂質含量のみならず細胞膜上の脂質ラ

フトが増加し、さらに TNF- $\alpha$  の分泌が促進していることが示唆された。TNF- $\alpha$  は pro-inflammatory cytokines の一つであり、タンジール病における早発性動脈硬化の進展機序の一つに炎症機構の関与が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は学位申請者である小関正博らが、脂質引き抜き低下状態における細胞膜の構造異常に焦点をあて、ATP-binding cassette transporter-1 (Abca1) 欠損細胞を用いて、細胞膜表面上の脂質ラフトや、サイトカイン分泌に与える影響について解析したものである。Abca1 欠損マクロファージにおいて、新規プローブ (BC $\theta$ 、PEG-chol) により細胞膜上の脂質ラフトが増加することが示され、またリポ多糖類 (LPS) 刺激による TNF- $\alpha$  分泌能の検討では、NF- $\kappa$ B 活性、TNF- $\alpha$  の合成、分泌の有意な促進が示された。一方、脂質ラフトを減少させる薬剤である cyclodextrin 処理でこれらの反応は抑制され、細胞膜上の脂質ラフト増加と TNF- $\alpha$  分泌亢進の関連が示唆されたことは非常に興味深い。本研究は、単一遺伝子の異常が脂質ラフトを変化させる事、および脂質ラフトの増加が動脈硬化を促進しうることを示した世界で最初の論文であり、脂質ラフトの研究を細胞生物学の分野から動脈硬化性疾患研究の分野へと展開させたことは意義深い。よって本論文は博士 (医学) の学位授与に値すると考えられる。