

審査の結果の要旨

氏名 永井有紀

生体膜の構成成分の1つであるホスファチジルセリン (PS) は、通常そのほとんどが形質膜脂質二重層の内側に局在している。PS は PKC、DG キナーゼなどの活性化因子であるとともに、アポトーシスや血小板の活性化に伴って細胞表面に露出し、細胞が貪食される際のマーカーや血液凝固反応の足場として機能する。また、PS のアシル基が1つ加水分解されて生じる LysoPS についても、ラット腹腔マスト細胞の活性化に必須であること、ヒト末梢 T 細胞の増殖を抑制することなどから、生理活性を持つ機能性リン脂質として位置づけ得る。しかしこれらセリンリン脂質の産生・消去機構には不明の点が多い。

「ホスファチジルセリン特異的ホスホリパーゼ A₁ (以下 PS-PLA₁) の生体内分布と発現誘導」と題する本論文においては、セリンリン脂質の産生・消去の鍵酵素であると考えられる PS-PLA₁ の発現を詳細に解析して、本酵素が炎症刺激によって誘導されることを示し、その誘導パターンからセリンリン脂質の機能についても考察を加えている。さらに PS-PLA₁ の発現量変化が生体に及ぼす影響を調べるツールとして、過剰発現マウスとノックアウトマウスを作製している。

1. 炎症刺激による PS- PLA₁ の発現誘導

ラットに LPS を投与してエンドトキシンショックを惹起すると、ほとんどの臓器で PS-PLA₁ の発現量が大きく上昇し、血漿および組織中に本酵素タンパクが検出された。誘導の経時変化を調べると、比較的早いのが即時的ではない誘導であると考えられた。また、腹膜炎、胸膜炎モデル動物等の局所炎症部位での PS-PLA₁ タンパクの発現を検討したところ、エンドトキシンショックの場合とほぼ同様の経時変化を示す酵素誘導が観察された。発現の経時変化は単球・マクロファージ系細胞の滲出パターンにほぼ一致することから、これらの細胞の関与が予想された。そこで培養マクロファージ系細胞を LPS で刺激したところ本酵素の誘導が見られ、生体内のマクロファージも様々な炎症性刺激に応じて PS-PLA₁ を発現することが

予想された。

PS-PLA₁ の発現誘導は脳虚血モデルラットの大脳でも観察され、梗塞部位を中心に、オリゴデンドロサイトや食食系の血管周囲細胞において PS-PLA₁ タンパクが誘導されていた。またこの誘導は2週間以上にわたって持続する、極めて遅発性の反応であった。

これら種々のモデル動物を用いた解析から、PS-PLA₁ タンパクは炎症反応の比較的后期に誘導され、誘導された本酵素は傷害を受けた組織の近傍に存在し、死細胞表面に露出した PS を基質として LysoPS を産生し、この LysoPS が組織修復的に作用するという図式が共通に想定された。

2. PS- PLA₁ 過剰発現マウスおよびノックアウトマウスの作製

PS-PLA₁ の発現量が種々の刺激に応じて変動するという結果を受け、本酵素のノックアウトマウス 1 系統、および過剰発現マウス 3 系統を作出した。これらを用いることで、今後 PS-PLA₁ 発現誘導の生理的意義や生体への影響を個体レベルで解析することが可能になると期待される。

以上を要するに、本研究は、ホスファチジルセリン特異的ホスホリパーゼ A1 が様々な炎症刺激で急激に発現誘導されること、発現細胞はマクロファージを主体としていることなどを見出し、本酵素が炎症反応に関与していることを強く示唆した。また、本酵素の動物レベルでの機能を解析する目的で、過剰発現マウスおよびノックアウトマウスの作製にも成功している。以上の結果は、本酵素の生理的機能を解明する上で意義深いものであり、博士（薬学）の学位として十分な価値があるものと認められる。