

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 進藤 英雄

本研究は、感染、免疫、アレルギーに大きく影響している血小板活性化因子 (PAF) の生合成機構について解析するため、生合成に関する 2 種類の酵素、ホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) とリゾ PAF アセチル転移酵素について調べたものであり、下記の結果を得ている。

1. 主に好中球からなるカゼイン誘導腹腔滲出細胞 (PEC) を細胞質型 PLA₂ α (cPLA₂ α) ノックアウトマウス、PAF 受容体ノックアウトマウスから回収し、カルシウムイオノフォア (A23187) 刺激後の PAF 産生量を調べた結果、cPLA₂ α が PAF 産生に必須であることがわかった。また、この刺激条件 (A23187) 下での PAF 産生には PAF 受容体欠損はほとんど影響しないことが示された。以上の PAF 量の測定は、PAF 受容体を過剰発現させたトランスジェニックマウスの心臓、骨格筋から調製した PAF 受容体を発現している膜画分を利用する、新規 PAF 定量法で行った。
2. リポポリサッカライド (LPS) 受容体 (TLR4) ノックアウトマウス、及び TLR4 の下流分子である MyD88 のノックアウトマウスのチオグリコレート誘導マクロファージを LPS 又は PAF で刺激したときのリゾ PAF アセチル転移酵素の活性調節について調べた。その結果、リゾ PAF アセチル転移酵素活性は、(1) PAF 受容体刺激による“秒”単位の活性化、(2) LPS 刺激による MyD88、p38 MAPK 依存的な“分”単位の活性化、(3) LPS 刺激による MyD88 非依存的な“時間”単位の活性化の少なくとも 3 種類の経路で調節されていることがわかった。
3. LPS 刺激後に続く PAF 受容体刺激によるリゾ PAF アセチル転移酵素活性化の相乗効果 (LPS プライミング効果) を調べた結果、LPS 刺激後“分”

単位の活性化では起こらず、“時間”単位の活性化でのみ起こることがわかった。さらに、この LPS プライミング効果による酵素活性の上昇は、MyD88 非依存的な経路で調節されていることと、酵素そのもの、またはその活性化因子などのなんらかのタンパク質発現量の増加によって起こることが示された。

以上、本論文は PAF 産生の増加には、cPLA₂αとリゾ PAF アセチル転移酵素の両方が大きく影響していることを明らかにし、これまで未知に等しかったリゾ PAF アセチル転移酵素活性の調節機構や、LPS プライミング機構の一部を解明した。本研究は、PAF と LPS プライミングが大きく関係する敗血症や急性呼吸窮迫症候群などにおける、新しい治療法の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。