

論文内容要旨

論文題目

Role of transcription factor MafB for efferocytosis
(Efferocytosis における転写因子 MafB の役割)

責任講座： 内科学第一講座

氏 名： 佐藤正道

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景と目的】 転写因子 MafB (v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B) はマクロファージの分化に関与し、細胞機能の調節に関与している。これまで、当講座では MafB が Fcgr3 の発現を誘導することでマクロファージの貪食に関与することを示した。マクロファージはアポトーシス細胞を生体内で貪食・処理する役割も演じており、この機構はエフェロサイトーシスとして知られている。エフェロサイトーシスには Axl 受容体チロシンキナーゼ (Axl) が必要であることが知られている。しかし、マクロファージにおける MafB とエフェロサイトーシスの関連は不明であり、また MafB と Axl の関連も不明である。本研究においては当講座で樹立された MafB 発現抑制細胞 (RAW264.7-MafB-shRNA 細胞) を用いて、これら関連について検討した。

【方法】 マウスから摘出した胸腺を細胞に単離し、デキサメサゾン処理を行いアポトーシスを誘導後、胸腺細胞を蛍光標識した。RAW264.7-MafB-shRNA 細胞とコントロール細胞に標識アポトーシス細胞を添加して、蛍光顕微鏡とフローサイトメトリーにて、その貪食陽性細胞の割合について検討した。また、リアルタイム PCR およびウエスタンブロッティングにて、Axl の mRNA および蛋白を定量し比較した。さらに、Axl と GFP を同時に発現するプラスミドベクターまたは GFP のみを発現するコントロールプラスミドベクターを RAW264.7-MafB-shRNA 細胞に遺伝子導入し、アポトーシス細胞に対する貪食能について比較した。

【結果】 蛍光顕微鏡とフローサイトメトリーにて RAW264.7-MafB-shRNA 細胞では、コントロールに比してアポトーシス細胞貪食能が有意に低下していた。Axl の mRNA および蛋白発現はコントロール細胞と比較し、RAW264.7-MafB-shRNA 細胞で有意に低下していた。さらに、コントロールプラスミドを導入した RAW264.7-MafB-shRNA 細胞と比較し、Axl を強制発現させた RAW264.7-MafB-shRNA 細胞でアポトーシス細胞に対する貪食能の改善が確認された。

【結論】 マクロファージにおいて、MafB は Axl の発現を誘導し、エフェロサイトーシスを制御していることが示唆された。

平成 29 年 1 月 17 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：佐藤 正道

論文題目：Role of transcription factor MafB for efferocytosis
(Efferocytosis における転写因子 MafB の役割)

審査委員：主審査委員

浅尾 裕信



副審査委員

高木 理彰



副審査委員

山川 光徳



審査終了日：平成 29 年 1 月 17 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

マクロファージはアポトーシスを起こした細胞をエフェロサイトーシスと呼ばれる機構により貪食・処理している。肺胞マクロファージでのこの機構の障害は、肺の嚢胞性線維症や慢性閉塞性肺疾患、特発性肺線維症などの病態形成に関わっていることが示唆されていることから、エフェロサイトーシスのメカニズム解明は重要な研究テーマである。転写因子である MafB はマクロファージの分化や貪食に関与していることが明らかとなっているが、MafB のエフェロサイトーシスに対する役割は不明である。また、アポトーシス細胞の受容体として機能している膜型チロシンキナーゼ Ax1 に対する MafB の機能も明らかではない。

申請者は、MafB 特異的 shRNA により MafB 発現を低下させたマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞を用いてエフェロサイトーシスと Ax1 発現について解析した。

MafB の発現を低下させた RAW264.7 細胞では、アポトーシス細胞の貪食能が低下していることが分かった。また、MafB の発現低下は、Ax1 の発現を低下させることが分かった。さらに、MafB 発現低下細胞に Ax1 を強制発現させると、貪食能の改善が認められた。以上の結果から、MafB はマクロファージのエフェロサイトーシスに対して Ax1 発現を介して促進的に作用していることを初めて明らかにした。

審査会では、研究テーマであるマクロファージやファゴサイトーシスについて、バックグラウンドを含めたより幅広い知識の整理、一部対照実験結果の提示、フローサイトメトリ解析方法の一部見直し、Ax1 イムノプロットの再検討などいくつか指摘事項があったが、対応可能であると考えられた。また、MafB による Ax1 発現制御メカニズムの解析や他のアポトーシス細胞受容体の解析など、今後検討しなければいけない点はあるが、研究目的の重要性や研究結果の新規性は十分である。審査会での質疑応答も概ね的確であり、学位論文審査委員会は本研究論文を博士（医学）の授与に値すると判定した。

(1, 200字以内)