

# 論文内容要旨

論文題目

## The role of macrophage transcriptional factor MafB in atherosclerotic plaque stability

動脈硬化性プラークの安定性におけるマクロファージ転写因子 MafB の役割

責任講座： 内科学第一講座

氏名：長谷川 寛真

### 【内容要旨】(1,200 字以内)

背景：単球・マクロファージは、動脈硬化の形成と進展に深く関与している。特に、不安定プラークの壊死性コアの形成には、マクロファージのアポトーシスが重要な役割を果たしている。MafB は単球・マクロファージの分化に重要な役割を果たす転写因子であるが、近年、マクロファージのアポトーシスへの関与が示唆されている。我々は、マクロファージ転写因子 MafB が動脈硬化に与える影響について検討した。

方法：当教室で作成したマクロファージ特異的優性阻害 MafB 遺伝子改変 (DN-MafB) マウスとアポ E 欠損 (ApoE KO) マウスを交配し、DN-MafB/ApoE KO マウスを作成した。9 週間高脂肪食を投与し、動脈硬化プラークの量的・質的評価と、TUNEL 染色によりアポトーシスの評価を行った。また、マウスマクロファージ細胞 RAW264.7 において、shRNA により MafB を抑制し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> によるアポトーシスをフローサイトメトリーで評価した。さらに、DN-MafB と野生型 (WT) マウスより腹腔マクロファージを採取し、lipopolysaccharide (LPS) の刺激下に炎症性サイトカイン等の mRNA 発現を real-time RT-PCR にて評価した。また両者でアポトーシス細胞の貪食能を検討した。WT と DN-MafB マウスの骨髄を、骨髄照射後の ApoE KO マウスに移植し、動脈硬化進展におけるマクロファージ特異的 MafB 阻害の影響を検討した。

結果：大動脈縦断像及び基部における動脈硬化面積は、ApoE KO と DN-MafB/ApoE KO マウスの間で同等であった。しかし、DN-MafB/ApoE KO マウスでは、ApoE KO マウスに比し有意に壊死性コアが大きく、コラーゲン量が少ない脆弱なプラークを認めた。また、DN-MafB/ApoE KO マウスのプラーク中では、ApoE KO マウスに比し有意に TUNEL 陽性のマクロファージが多かった。プラーク中のマクロファージの量と、WT と DN-MafB マウス間でのアポトーシス細胞の貪食能は同等であり、アポトーシスの亢進が示唆された。ApoE KO マウスに DN-MafB の骨髄を移植した実験においても、壊死性コアの増加が同様に認められた。また、MafB 抑制マウスマクロファージでは、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激によるアポトーシスはコントロールに比し有意に増加していた。さらに、LPS 刺激下の腹腔マクロファージにおいて、DN MafB マウスでは WT に比し有意な炎症性サイトカイン/M1 マクロファージマーカー (TNF- $\alpha$ 、IL-6、CD11c、p22phox) の mRNA 発現の亢進を認めた。

結論：マクロファージ特異的 MafB の抑制は、進行動脈硬化病変のプラーク脆弱化に寄与することが示唆された。

平成 25 年 1 月 24 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：長谷川 寛真

論文題目：The role of macrophage transcriptional factor MafB in atherosclerotic plaque stability  
(動脈硬化性プラークの安定性におけるマクロファージ転写因子 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 今田 恒夫



審査終了日：平成 25 年 1 月 11 日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

マクロファージのアポトーシスは、動脈硬化の中でも特に不安定プラークの壊死性コアの形成に関わっている。単球・マクロファージの分化に重要な転写因子 MafB はマクロファージのアポトーシスにも関与することが示されていることから、申請者は MafB が動脈硬化に対してどのような役割を持つのかを検討した。

マクロファージ特異的に優性阻害 MafB (DN-MafB) を発現するマウスとアポ E 欠損マウスを交配し、高脂肪食を摂取させることにより動脈硬化病変を誘導し、その性状を解析した。その結果、動脈硬化病変の面積はアポ E 単独欠損マウスと同等であったが、二重変異マウスでは病変内の壊死性コアの面積が大きく、その表面のコラーゲン量が少ない脆弱なプラークが多いことが示された。動脈硬化病変内のマクロファージ分布領域に差はなかったものの、二重変異マウスでは TUNEL 陽性のアポトーシスを起こしたマクロファージが有意に多かった。MafB を shRNA で発現抑制したマクロファージ細胞株を使用し、*in vitro* でも酸化ストレスによるアポトーシスを MafB が抑制していることを確認している。さらに DN-MafB マウス由来腹腔マクロファージは野生型マクロファージに比較し、LPS 刺激に対して有意に炎症性サイトカインや M1 マクロファージのマーカーの発現亢進を認めた。これらは動脈硬化病変の進展および脆弱化を促進すると考えられる。

以上の研究から、MafB がマクロファージのアポトーシスや炎症反応の拡大を抑制している可能性が示された。MafB の機能発現のメカニズムはまだ不明であるが、今後動脈硬化病変の中でも脆弱な壊死性プラークの発生予防や治療への基礎研究につながるのではないかと期待される。タイトルおよびデータの提示方法や導入部の記載内容など、いくつか修正すべき点が審査会で指摘されたが、関連する事項についての質疑応答も的確であり、本審査会は本研究が博士 (医学) の授与に値すると判定した。

(1, 200 字以内)