

(第7号様式)

学位論文審査結果の要旨

氏名	Muhammad Novrizal Abdi Sahid
審査委員	主査 小林 直人 副査 松浦 文三 副査 田中 亮裕 副査 藤山 幹子 副査 加納 誠

論文名

スタチンによるメバロン酸経路阻害はマスト細胞の脱顆粒反応を抑制する

審査結果の要旨 (2,000字以内)

学位論文の要旨

[背景と目的] マスト細胞からのヒスタミンの遊離はI型アレルギー反応を惹起するが、この遊離の過程を薬剤によって制御できれば多くの患者を治療できると期待される。HMG-CoA還元酵素阻害剤として知られるスタチン製剤は、高コレステロール血症の治療に用いられる一方、免疫系に作用して炎症症状の改善に関わることが明らかになっている。そこで本研究では、培養細胞を用いて、スタチン投与によってマスト細胞からのヒスタミンの開口分泌が阻害されるかどうかを検討し、その阻害メカニズムを明らかにしようとした。

[材料と方法] マスト細胞の腫瘍細胞系であるラット好塩基球性白血病細胞 (RBL-2H3) を用いて、抗原 (DNP-BSA)、カルシウム・イオノフォア (ionomycin)、小胞体の Ca-ATPase 阻害薬 (thapsigargin) の3種の刺激によってヒスタミン遊離を誘導し、その反応がスタチンの一種である simvastatin の前処理によって抑制されるかどうかを検証した。さらにそのメカニズムを明らかにするため、geranylgeraniol 処理による抑制の解除を検討した。開口分泌に関わる分子についてはその mRNA やタンパク質の発現を検討し、低分子量Gタンパクの一種 Rab27a と Ca 結合タンパクの一種 Doc2a が重要な分子であると予想されたため、両者の相互作用を市販のキットを用いた Proximity ligation assay によって解析した。

〔結果と考察〕 マスト細胞の培養系を上記の3種いずれの方法で刺激しても、simvastatin はヒスタミン遊離を抑制した。このことから、simvastatin が阻害している過程は刺激から遊離に至る経路の最終段階であると予測された。検討した4種のスタチンの中では、simvastatin が最も有効であると考えられた。また、simvastatin による抑制は geranylgeraniol 処理によって回復したことから、タンパク質のゲラニルゲラニル化の阻害がメカニズムとして重要であることが示された。さらに、開口分泌を制御しているタンパク質からゲラニルゲラニル化のターゲットを同定するため、その候補について mRNA の発現を PCR 法にて、タンパク質の細胞内局在を蛍光抗体法にて、それぞれ確認した。最後に、Doc2a と Rab27a とのタンパク質同士の相互作用を、Proximity ligation assay 法によって示した。

simvastatin は、Rab27a 等の開口分泌に関わる分子のゲラニルゲラニル化を抑制することによって、マスト細胞からのヒスタミン遊離を阻害すると考えられた。本研究により、スタチンによるアレルギー反応抑制作用とその分子メカニズムの一端が明らかにされた。

審査結果の要旨

本論文の公開審査会は、平成29年2月2日に行われた。

申請者は、今回の研究の目的と方法、結果とその解釈について英語で説明した。その後、審査委員から英語と日本語で質問を行い、申請者はこれらの質問に対して英語で応答した。主な質問内容は以下の通りであった（〔 〕内は申請者の応答）。

- ・スタチンのアレルギー反応抑制について、ヒトや他のモデルでの検討事例はあるか。〔癌患者の例があるが、アレルギーについては報告されていないと思う。〕
- ・使用した simvastatin はプロドラッグか。〔分子構造の変化した活性型を用いた。〕
- ・他の阻害剤の効果は検討したか、スタチンの脱顆粒抑制以外の効果は考えられるか。〔行った実験の範囲では、細胞傷害性は可能性としてありえる。〕
- ・IgE 抗体の抗原性の記載は正確か。〔以前に所属研究室が開発した抗体を用いた。〕
- ・実験によってコントロール群でもヒスタミン遊離の量が異なるのはなぜか。〔細胞株の継代数の違いや培養条件等によって、実験条件が一定しなかった。〕
- ・スタチンの種類による効果の違いは、由来や水溶性の違いによるものか。〔分子構造によると考えられるが、単純な分類による違いではなかった。〕
- ・ヒスタミンの遊離量と含有量との関係が矛盾していないか。〔矛盾ではないと思うが、スタチンによる細胞傷害の影響が見られる。〕
- ・ヒスタミンの delayed release の可能性を検討したか。〔今回は検討していない。〕
- ・ヒスタミン遊離抑制の解除に farnesol が無効な理由は何か。〔代謝経路が farnesol で分岐しているので、予期したのとは別の方向に代謝されてしまった可能性がある。〕
- ・simvastatin のターゲットは Rab27a だけか。〔開口分泌はタンパク質複合体で制御されているので、cdc42 等の他のタンパク質も候補である。〕

学位論文審査の結果

以上から、審査委員会は、申請者が研究テーマとその関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が博士（医学）の学位授与に値すると判定した。