

学位論文審査結果の要旨

氏名	森 秀樹
審査委員	主査 白石 敦 副査 雑賀 隆史 副査 川上 良介 副査 阿部 雅則 副査 吉田 素平

論文名 表皮角化細胞における poly(I:C) 誘導炎症に対する Reduced-HMGB1 の抑制効果について

審査結果の要旨

【研究内容のまとめ】

(背景) High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は、核内で DNA に結合する非ヒストンタンパクで、核内のホメオステータスに関与している。しかし、細胞壊死などにより細胞外へ排出されると、他のサイトカインや DNA などと結合し、Toll 様受容体 (Toll like receptor : TLR) や RAGE など自然免疫系の受容体を介して直接または間接的に炎症性サイトカイン産生に関与することが知られている。皮膚の炎症性疾患やリウマチなどでは HMGB1 の血中濃度が高くなることが報告されており、また敗血症における Late mediator としても注目されている。一方、HMGB1 は細胞遊走能を持ち、創傷治癒において重要な役割を果たしていることが分かってきた。本研究では、表皮角化細胞に対する細胞外 HMGB1 の働きについて研究した。

(方法) HMGB1 は redox status により炎症性サイトカインの性格をもつ disulfide-HMGB1 と chemotactic に働く reduced-HMGB1 の状態がある。そこで、ヒト培養角化細胞にそれぞれの HMGB1 を作用させ、炎症性サイトカイン (IL-8、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- β) の発現について real time PCR 法と ELISA 法を用いて検討した。続いて、poly(I:C) により誘導した炎症性サイトカインの発現に与える disulfide-HMGB1 と reduced-HMGB1 の影響についても検討した。さらに poly(I:C) 刺激による細胞内シグナル伝達経路への影響についても検討した。

(結果) Disulfide-HMGB1 はヒト培養角化細胞に対して IFN- β の産生を促すが、reduced-HMGB1 はすべての炎症性サイトカインの産生に影響しなかった。poly(I:C) により誘導した炎症性サイトカイン (IL-8、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- β) の産生を disulfide-HMGB1 は抑制しないが、reduced-HMGB1 は抑制した。Reduced-HMGB1 の抑制効果は poly(I:C) 刺激の 30 分前に reduced-HM

GB1 を投与した場合に認められ、その抑制効果は短時間であることを明らかにした。poly(I:C) による TLR3 刺激を介する細胞内シグナル伝達経路に対する reduced-HMGB1 の影響を検討した結果、TLR3、RIG-I、MDA5 さらには MAPK、IRF3 には影響を与えず、NF- κ B、I κ B α のリン酸化を抑制していた。

(結論) 本研究では、disulfide-HMGB1 が角化細胞において炎症を惹起し、reduced-HMGB1 は抑制的に働くことを明らかにした。特に、HMGB1 によるヒト角化細胞直接的な抗炎症作用についてはこれまで報告されておらず、新知見である。本研究結果は皮膚の慢性炎症性疾患のメカニズム解明と新たな治療薬の開発につながる可能性を導き出した。

本論文に対する公開審査会は平成 30 年 5 月 8 日に開催された。申請者から研究内容が英語による口頭発表された後に、審査委員から本研究に関連する以下の質問がなされた。研究方法について、(1) 表皮角化細胞の培養方法は一般的な方法であるか。さらに本研究で用いられた角化細胞の培養条件の詳細について、さらにその状態での培養細胞は一般的な皮膚の細胞として評価してよいか。(2) 炎症物質の誘導に poly(I:C) を使用しているが、皮膚におけるウイルス感染による炎症誘導と同様な効果があると考えてよいか。研究内容について、(3) Reduced-HMGB1 による poly(I:C) により誘導される炎症性サイトカインの抑制効果が、前処理 30 分で認められ、その効果は短時間であることに関して、reduced-HMGB1 が短時間で酸化されることが原因か。(4) HMGB1 は細胞のどのような状態で細胞外に出されるのか、また in vivo ではどのような病態で産生されるのか。(5) 通常の皮膚組織における HMGB1 の供給細胞はどのような細胞か、角化細胞は供給源となるのか、それともターゲットなのか。(6) 通常の皮膚角化細胞では HMGB1 は細胞内でどのような働きを行っているのか。また、細胞外には存在しているのか。さらに、本研究からどのような将来展望を考えているかについて、(7) Reduced-HMGB1 は、短時間で酸化されてしまう、処理過程で毒性が発生する、といった問題点があるが、臨床応用に用いることは可能か。(8) Reduced-HMGB1 が臨床応用に用いられないとすると、同様の効果を発揮するためのペプチドなどの開発は進められているのか。(9) Reduced-HMGB1 又は代替となる可能性のあるペプチド等が臨床応用されるとすると、ターゲットとなる疾患は。

これらの質問に対して申請者は、質問の意図を十分に理解した上で、詳細かつ明確に応答した。本論文は、HMGB1 によるヒト角化細胞直接的な抗炎症作用について検討したもので、reduced-HMGB1 が炎症抑制効果を持つという新たな知見を含んでおり、今後の研究の発展が期待される。審査委員は全員一致して本論文を高く評価し、博士(医学)の学位論文に値するものと結論した。