

氏名（本籍）	松井 英起		
学位の種類	博 士（ 生物科学 ）		
学位記番号	博 甲 第	7332	号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Physiological Functions of the Tumor Necrosis Factor (TNF) Superfamily of Pro-inflammatory Cytokine (炎症性サイトカインTNFスーパーファミリーの生理学的作用に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学教授	理学博士	林 純一
副査	筑波大学教授	博士（理学）	中田 和人
副査	筑波大学准教授	理学博士	桑原 朋彦

論 文 の 要 旨

本論文はアポトーシスにおける Tumor necrosis factor (TNF) レセプターシグナル伝達機序の解明と、TNF α のアポトーシスや炎症以外の生理学的作用の解明を目指した。

TNF α は炎症反応の惹起、および数種の癌細胞にアポトーシスを誘導する。また、TNF α とその受容体は共に遺伝子構造上大きなファミリーを形成し、様々な生理的機能を担っている。TNF 受容体ファミリーには、細胞死誘導に重要な death domain (DD) を持つものと DD を欠損しているものがある。TNF ファミリー受容体が細胞内にシグナルを伝達する経路として、DD を介したカスパーゼ経路と、受容体に会合する TNF Receptor-Associated Factor (TRAF) を介した NF κ B の活性化経路が報告されている。特にアポトーシス誘導にはカスパーゼ経路が重要であるが、TNF α によるアポトーシスが観察されない場合があり、TNF α による細胞死誘導作用機序には不明な点が残されていた。また、シグナル経路の複雑性から、TNF α の細胞死誘導、炎症反応以外の幅広い生理的、病態形成的な関与の可能性が示唆されていた。

TNF α によるアポトーシスが誘導されないメカニズムとして、TNF α 刺激によりカスパーゼ経路と同時に活性化される NF κ B が細胞死を抑制していることが考えられた。TNF ファミリーリガンドである LIGHT の受容体である Lymphotoxin (LT) beta 受容体および herpesvirus entry mediator (HVEM) は DD を欠損しており NF κ B 活性化を惹起するが、カスパーゼ経路を活性化できない。そこで LIGHT は TNF α 依存的な細胞死を抑制できるという仮説を立て、正常ヒト肝細胞を用いたアクチノマイシン (ActD) 存在下での TNF α による細胞死系を構築し、LIGHT の抗アポトーシス作用を検討した。その結果、DD を有するレセプターのリガンドである TNF α 、LT α および Fas 抗体は単独で細胞死を誘導するが、LIGHT は細胞死を誘導しないこと、また、ActD 添加前の LIGHT 処置が TNF α 依存的な細胞死を抑制することを見出した。この時、細胞死誘導によりカスパーゼが活性化されるが、LIGHT 前処置がその活性化を抑制することが判明した。また LIGHT による NF κ B 依

存的転写誘導も観察された。

これらの結果は TNF α シグナルによるカスパーゼ活性化および細胞死誘導が、同時に活性化される NF κ B により負に制御されていることを示す。このようなメカニズムは、細胞の状態変化に呼応した適切な細胞死誘導のために有効な手段であると結論する。

TNF α の細胞死誘導、炎症反応以外の幅広い生理的、病態形成的な関与の可能性に関しては、接着分子の発現に注目した。接着分子は炎症性細胞の炎症部位への遊走に重要な役割を果たしている。組織中の TNF α 測定は困難であったが、接着分子 ICAM-1 がサロゲートマーカーとして活用できると考えた。そこで、非炎症性疾患と考えられた II 型糖尿病性腎症（以下、腎症）での TNF α および接着分子の関与を解析するため、その腎症モデルである Wistar fatty ラットの腎臓における ICAM-1 の発現を検討した。その結果、腎症の発症に呼応した腎糸球体での ICAM-1 発現上昇を見出した。本モデルでの炎症性細胞の顕著な浸潤は観察されていないが、病態形成への関与を調べる目的で、抗ラット ICAM-1 抗体を連続投与し抗腎症作用を検討したが、尿中アルブミン量の低下は観察されなかった。従って、抗体による腎症治療効果は認められないが、ICAM-1 は糖尿病性腎症発症のバイオマーカーの 1 つであると結論した。

最近までの知見と併せて考察すると、糖尿病性腎症の発症において TNF α は酸化ストレスの正のフィードバックおよび ICAM-1 を含む炎症性因子の発現誘導に関与し、ICAM-1 は免疫細胞浸潤に関与すると考えられる。

審 査 の 要 旨

本研究により、生存シグナル経路と細胞死シグナル経路を共に誘導する TNF α による肝細胞死は、DD を有さない受容体を介する LIGHT により抑制されることが判明し、TNF α が関与する肝細胞死を同じ TNF ファミリーが負に調節していることが明らかになった。これは複雑な TNF レセプターシグナル伝達機序の理解に、大きな進歩をもたらす画期的な成果である。また、TNF α とこれにより発現誘導される接着因子、ICAM-1 は種々の糖尿病性腎症モデルで発現上昇しており、炎症性サイトカインである TNF α の糖尿病性腎症の発症への ICAM-1 の関与が示唆された。審査ではこれらの知見の生物学的意義について質疑が行われた。松井氏は、本研究が細胞の状態変化に呼応した適切な細胞死誘導の調節機構の存在を提示すること、ICAM-1 が糖尿病性腎症治療のターゲットになりうることを、適切かつ論理的に主張した。その結果、本学位論文が学術的に優れた研究であること、松井氏が博士（生物科学）の資格を十分有することが確認された。

平成 27 年 2 月 2 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。