

別紙 1-1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 川田 玲央

論 文 題 目

Macrophage-derived extracellular vesicles regulate concanavalin A-induced hepatitis by suppressing macrophage cytokine production

(マクロファージ由来細胞外小胞はマクロファージにおけるサイトカイン産生の抑制を介してコンカナバリン A 誘発性肝炎の病態を調節する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

加藤 昌志 


名古屋大学教授

委員

山田 清文 

名古屋大学教授

委員

豊岡 伸哉 

名古屋大学教授

指導教授

横井 毅 

論文審査の結果の要旨





別紙 1-2

今回、自己免疫性肝炎モデルであるコンカナバリン A (Con A) 誘発性肝炎マウスにおいて、血清中 Extracellular vesicles (EVs) 数が増加することを示した。また *in vitro* 実験において、Con A 処置によりマクロファージ細胞株である RAW264.7 細胞の分泌 EVs 数が増加することを示した。これら EVs の前処置により、RAW264.7 細胞における炎症性サイトカイン産生が抑制された。この抑制因子同定のため miRNA-seq 解析を行った結果、mmu-miR-122-5p 及び mmu-miR-148a-3p が EVs を介して処置細胞内に取り込まれたことが示された。炎症反応関連パスウェイ上のこれら miRNAs の予測標的遺伝子 mRNA レベルは EVs 処置細胞において抑制された。また EVs 放出促進因子である RAB27A の肝臓におけるノックダウンにより、Con A 誘発性肝炎が増悪した。以上より、マクロファージ由来 EVs が包含 miRNAs による炎症性サイトカイン産生調節を介して、本病態調節に重要な役割を果たすことが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 自己免疫性肝炎は組織学的にはリンパ球浸潤と肝細胞壊死がみられ、T 細胞の発症への関与が報告されている。Con A 誘発性肝炎マウスは、Con A による肝臓中マクロファージ細胞（クッパー細胞）や T 細胞の刺激、炎症性サイトカイン産生亢進を介して急性肝炎を誘発するため、本疾患モデルとして広く用いられている。しかし自己免疫性肝炎の多くが慢性経過を示し、自己抗体がみられるといった性質を本モデルは有しておらず、病態モデルとしての課題が残る。これら課題点を解決すべく PD-1 等の抑制性共刺激分子ノックアウトや抗原タンパク質発現を介した自己免疫誘発モデルが報告されており、病態解明にはこれらモデルも有用となるだろう。
2. 静脈内投与された Con A は肝臓に移行して肝炎を誘発するが、腎臓や脾臓といった組織にも移行し炎症反応を惹起することが報告されている。このため Con A 肝炎モデルマウス血清中で増加した EVs の由来細胞は肝臓以外の組織構成細胞も含まれると推定される。肝炎に着目した本研究内では肝細胞株及び Con A の主な標的細胞であるマクロファージ細胞株においてのみ Con A 処置時分泌 EVs 数の変動を検討したが、由来細胞同定のためにはより詳細な検討が今後必要である。
3. マクロファージ細胞を含む様々な細胞由来 EVs を静脈内投与した際、多くが肝臓組織に分布し、クッパー細胞に取り込まれることが報告されている。このため、Con A 肝炎モデルマウス血清中で増加した EVs もクッパー細胞に取り込まれ作用すると推定される。実際に本研究内での *in vitro* EVs 処置実験においても、モデルマウス血清由来 EVs がマクロファージ細胞株細胞質内に取り込まれることが示された。本研究は、EVs が自己免疫性肝炎の治療標的として有用となりうることを示した。以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	川 田 玲 央
試験担当者	主査 加藤昌志  副査: 小田清文  副査: 豊岡伸哉  指導教授 横井毅 			
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 本研究で使用した Con A 誘発性肝炎モデルマウスの疾患モデルとしての妥当性について 2. Con A 誘発性肝炎モデルマウスで分泌亢進された細胞外小胞の由来細胞について 3. Con A 誘発性肝炎モデルマウスで分泌亢進された細胞外小胞の体内分布、標的細胞について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、トキシコゲノミクス一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				