

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 11451 号
------	---------------

氏 名 樋口 廣士

論文題目

マクロファージによる炎症応答の制御を目指したシアル酸認識レクチンSiglecに関する生物工学的研究
(Analysis of Sialic acid-binding Lectin Siglec to Regulate Inflammatory Responses of Macrophages)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	飯島 信司
委員	名古屋大学	教授	本多 裕之
委員	名古屋大学	教授	北島 健
委員	名古屋大学	准教授	西島 謙一

論文審査の結果の要旨

樋口廣士君提出の論文「マクロファージによる炎症応答の制御を目指したシアル酸認識レクチンSiglecに関する生物工学的研究」は、免疫細胞が発現し細胞表面糖鎖の末端に存在するシアル酸を特異的に認識するレクチンタンパク質Siglecに着目し、炎症など免疫応答を調節する役割に関して生物工学的アプローチを用いて解析したものである。炎症は疾病の原因としても重要であるが、ハイブリッド型人工臓器開発にも大きな問題となる現象である。各章の概要は以下の通りである。

序論では研究の背景を述べた。

第1章では、炎症を引き起こす細胞であるマクロファージにおいてSiglecが抗炎症性サイトカインIL-10を産生させるという知見を受け、その産生機構の仕組みを遺伝子発現制御という観点から明らかにした。マウスIL-10遺伝子の転写開始点より1500, 1000, 500 bp上流までの染色体領域をルシフェラーゼ発現ベクターに組み込み、マウスマクロファージ様細胞株RAW264を用いたアッセイにより、転写因子C/EBP β がSiglec-9によるIL-10産生促進作用に重要な因子であることを示した。

第2章では、マクロファージを炎症抑制性に分化させるサイトカインであるIL-4に対する応答をSiglec-9が促進するというこれまでの結果を受け、その制御メカニズムについて、細胞内シグナル伝達経路を中心に解明した。IL-4シグナル伝達経路のうち、Jak-STAT経路の活性化によるSTAT6のリン酸化はSiglec-9の発現によってやや減少する一方、フォスファチジルイノシトール-3キナーゼ経路の活性化によるAktのリン酸化およびMAPキナーゼ経路の活性化によるERK1/2のリン酸化がSiglec-9の発現により増加することを見出した。次に、阻害剤実験によりこれらの細胞内シグナル伝達の重要性を検討し、Siglec-9の有無に関わらずSTAT6はIL-4応答に極めて重要であること、およびSiglec-9のIL-4応答促進作用にはMEK-ERK経路が重要であることを明らかにした。

第3章では、ヒトマクロファージに恒常的に発現している複数のSiglecの役割の解明を目指し、様々な培養条件下におけるSiglecの発現変動を比較した。血液より分離した単球から分化させた初代培養マクロファージでは、分化に伴ってSiglec-7および9の発現が亢進すること、また、Siglec-10の発現はさらにIL-4刺激を加えると増加することを明らかにした。次に、ヒトマクロファージにおいてSiglec-9遺伝子を不活性化し、遺伝子発現に与える影響を解析したところ、Siglec-9遺伝子不活化により炎症性刺激により誘導されるケモカイン受容体CCR7の発現が増加する一方、IL-4刺激により誘導される免疫抑制分子CD200Rの発現が減少することが明らかとなった。この結果から、Siglec-9はヒトマクロファージの遺伝子発現を制御していることが示唆された。

以上のように、本論文でSiglecの新しい機能が明らかになり、さらにヒト生体内での役割を示唆する結果が得られた。これらの結果は、将来アレルギーやリウマチなどの炎症性疾患の治療への応用が期待されるばかりでなく、ハイブリッド型人工臓器などに用いる生体適合材料の開発においても重要な知見であり、工学の発展に寄与するところが大きい。よって、本論文の提出者である樋口廣士君は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格があると判断した。