

論文審査の要旨

報告番号	総研第 332 号		学位申請者	佐々木 文郷
審査委員	主査	乾 明夫 ()	学位	博士 (医学)
	副査	堀内 正久	副査	原 博満
	副査	谷本 昭英	副査	石神 純也

Expression of glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B in macrophages infiltrating injured mucosa is associated with severity of experimental colitis in mice

(傷害大腸粘膜に浸潤したマクロファージに発現する GPNMB は、腸炎モデルにおいてその重症度に関連する)

炎症性腸疾患では腸管マクロファージの機能異常によって過剰な免疫反応が誘導され、腸管マクロファージは炎症性腸疾患の病態に深く関与すると考えられているが、その分子機序は十分解明されていない。Glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B (GPNMB、別名 osteoactivin) は傷害された肝組織中に存在するマクロファージに発現し、GPNMB が肝における炎症のフィードバック調節因子として作用していることが報告されている。しかし、炎症性腸疾患における GPNMB の役割は全く不明である。そこで学位申請者らは、実験大腸炎モデルを用いて、炎症性腸疾患における GPNMB の分子機構およびマクロファージ機能に及ぼす GPNMB の影響を明らかにすることを目的とした。7 週齢の Balb/c マウスに DSS で腸炎を誘導させ、大腸組織における GPNMB 遺伝子発現を検討した。また、GPNMB 変異および野生型マウスに腸炎を誘導させ、体重変化率、腸炎の重症度、サイトカイン発現を検討した。さらに GPNMB 変異および野生型マウスから腹腔マクロファージを単離し、サイトカイン産生能を評価した。マウスマクロファージ細胞株にて GPNMB 遺伝子発現を siRNA で抑制し、GPNMB によるサイトカイン産生とシグナル伝達系に及ぼす影響を検討した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

(1) GPNMB 遺伝子発現は DSS 投与開始後、大腸炎の増悪に伴って誘導され、DSS 投与中止後は漸減した。DSS 投与後の大腸組織において、GPNMB タンパク発現も亢進しており、免疫組織化学染色では、GPNMB は傷害粘膜に浸潤したマクロファージに発現していた。

(2) GPNMB 変異マウスは GPNMB タンパクを発現せず、野生型マウスに比して、変異マウスは DSS 投与後の体重減少が顕著であり、疾患活動性を示す Disease Activity Index および病理組織学的スコアが有意に上昇していた。また、腸管からの IL-1 β と IL-6 の mRNA 発現は変異マウスで有意に高値であった。

(3) GPNMB 変異マウスから単離したマクロファージは、野生型マウスのマクロファージに比べ、炎症性サイトカインの産生能は高く、抑制性サイトカインである IL-10 産生能は低かった。

(4) RAW264.7 細胞の GPNMB 発現は、LPS 刺激下で低下するが、刺激中止後に上昇した。また、siRNA による GPNMB 発現抑制により、RAW264.7 細胞の IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MCP-1 mRNA 発現は 1.5~6 倍増強した。さらに、GPNMB 発現抑制により p38 と ERK1/2 活性が亢進したが、JNK 活性には変化がなかった。

【結論及び考察】

炎症性腸疾患の病態形成にはマクロファージが深く関与しており、炎症性腸疾患の病態モデルである IL-10 欠損マウスからマクロファージを選択的に除去すると腸炎が抑制される。一方、炎症性腸疾患患者のマクロファージ機能に障害があることは古くから指摘されている。これらの知見から、炎症性腸疾患の病態に重要な役割を担っている腸管マクロファージの機能を制御する分子は、炎症性腸疾患治療の分子標的になる可能性がある。今回の研究から、炎症で誘導される GPNMB は、炎症を終息させるようにマクロファージ機能を調節する炎症のフィードバック調節因子であり、さらに傷害組織の再生、修復にも関与している可能性も考えられた。腸管マクロファージに発現する GPNMB の発現制御が、新たな抗炎症・免疫抑制療法、さらには傷害粘膜の修復に主眼をおいた新規治療法開発の分子基盤の確立につながる可能性がある。

よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。