

京都大学	博士 (医学)	氏名	野間 成人
論文題目	Inhibition of MMP-2-Mediated Mast Cell Invasion by NF-κB Inhibitor DHMEQ in Mast Cells (NF-κB 阻害剤 DHMEQ は MMP-2 発現の抑制を介してマスト細胞浸潤を抑制する)		
(論文内容の要旨) [背景・目的] 転写因子 NF-κB は、Rel ファミリータンパク質 (RelA, RelB, c-Rel, p50, p52) のホモまたはヘテロ 2 量体によって構成され、その活性化は細胞の分化や生存にとって重要である。一方で、過剰な活性化は、種々の腫瘍の癌化、病的な炎症反応、あるいは関節リウマチ等の自己免疫疾患の素因となることが示されている。皮膚や粘膜周辺に存在するマスト細胞は、アレルギー反応に重要な役割を果たしている。マスト細胞は、IgE の FcεRI 受容体への結合と多価抗原の架橋により活性化し、この時 NF-κB の活性が誘導される。また、IgE が結合した感作マスト細胞における抗原への遊走・浸潤は、I 型アレルギー反応を増強する現象の一つである。本研究ではまず、NF-κB 阻害剤 DHMEQ の、マスト細胞の遊走・浸潤に及ぼす効果を検討した。さらに、マスト細胞の浸潤に関わる遺伝子産物のうち、DHMEQ 処理を行った際の発現の増減を PCR アレイ法により調べることで、発現誘導が NF-κB に依存する因子について同定を行った。さらに、同定された因子の詳細な発現メカニズムに関して検討を加えた。 [結果・考察] マスト細胞様細胞 RBL-2H3 の浸潤能に対する DHMEQ の効果につき、マトリゲルチャンネルを用いて検討を行った。その結果、DHMEQ は感作マスト細胞の抗原への浸潤を顕著に抑制した。また DHMEQ は、IgE/DNP (dinitrophenyl) 刺激によって誘導される NF-κB の活性を顕著に抑制し、NF-κB の転写標的である炎症性サイトカインの TNF や IL-6 の発現も抑制された。また、細胞の遊走・浸潤に関連する 84 遺伝子について、マスト細胞に DHMEQ 処理を行った際の発現の増減を PCR アレイ法により調べた結果、DHMEQ により matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) の発現が抑制されることが判明した。そこで DHMEQ 処理時の他の MMP ファミリー分子の発現変化を RT-PCR 法を用いて調べたところ、他の因子 (MMP-9, MMP-13, MT1-MMP) の発現には影響が観察されず、MMP-2 発現の抑制のみ確認された。一方、タンパク質合成阻害剤 cycloheximide は、IgE/DNP 刺激による MMP-2 発現を抑制しなかったことから、IgE/DNP による MMP-2 発現の上昇は、NF-κB 活性の直接的な作用であることが示唆された。次に MMP 阻害剤 GM6001 を処理したときのマスト細胞の浸潤能について検討したところ、GM6001 は感作マスト細胞の抗原への浸潤を顕著に抑制したが、一方、GM6001 と DHMEQ の共処理は、浸潤抑制に関して相乗効果を示さなかった。このことから、両薬剤は同様のシグナル経路を抑制していることが示唆された。これらの観察については、マウス骨髄細胞から分化誘導した初代培養マスト細胞においても同様の結果が確認された。以上より、マスト細胞の浸潤に重要な因子として MMP-2 が見出され、また、IgE/DNP 刺激時の MMP-2 の発現誘導が NF-κB によって制御されていることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

マスト細胞は、皮膚、粘膜下組織、結合組織などに存在し、その役割として、生体における微生物感染や寄生虫に対する免疫応答を担う。しかし一方で、マスト細胞の不適切な活性化は花粉症や食物アレルギーなどの疾患の誘因となる。多価抗原に結合した IgE がマスト細胞表面の FcεRI 受容体を架橋すると、マスト細胞の活性化が起こる。このとき、転写因子 NF-κB の活性化が誘導されるが、FcεRI の下流で活性化する NF-κB のマスト細胞における詳細な役割については不明点が多い。本研究では、NF-κB 阻害剤 DHMEQ を用いて、マスト細胞における FcεRI の下流で活性化する NF-κB の役割について検討を行った。DHMEQ は I 型アレルギー反応を増強する現象の一つであるマスト細胞の浸潤を抑制した。また、DHMEQ 処理により matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) の発現が抑制された。さらに、MMP-2 阻害剤の添加により、マスト細胞の浸潤は抑制された。以上の研究は、FcεRI の下流で活性化する NF-κB が、MMP-2 の発現を介したマスト細胞の浸潤を制御することを明らかにしたもので、マスト細胞を標的としたアレルギー疾患の治療への応用発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 10 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降