

京都大学	博士(医 学)	氏 名	三好 隆史
論文題目	The role of endothelial interleukin-8/NADPH oxidase 1 axis in sepsis. (敗血症における血管内皮由来インターロイキン8/NADPH オキシダーゼ1 経路の役割)		
(論文内容の要旨)			
敗血症は、生体内に侵入した病原微生物に対する宿主の高サイトカイン反応による全身性炎症疾患として捉えられている。インターロイキン-8 (IL-8) は強い好中球遊走活性を示すケモカインとして知られているが、血管内皮細胞が産生する IL-8 の敗血症病態における役割、特に組織傷害に重要とされる活性酸素 (ROS) 産生系の役割については未だ明らかにされていない。そこで、リポ多糖類 (LPS) 刺激ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) の <i>in vitro</i> モデルを用いて、敗血症病態形成における NADPH オキシダーゼ (Nox) -1 の役割を検討した。 まず、LPS 刺激により HUVEC が IL-8 を産生すること、ROS を産生することを確認した。そして IL-8 刺激により HUVEC が ROS を産生すること、IL-8 誘導 ROS 産生は LPS 誘導 ROS 産生 (2 時間以上) に比べ、短時間 (1 時間以内) であること、IL-8 受容体 (CXCR1,2) の中和抗体や IL-8 特異的 siRNA の前処理により LPS 誘導 ROS 産生が部分的に抑制されることを明らかにした。これらの所見から、HUVEC において、LPS 刺激による ROS 産生は IL-8 を介することが示唆された。また、LPS および IL-8 誘導 ROS 産生は Nox 阻害剤である DPI の前処理により完全に抑制されることから、両者ともに Nox 依存性であることが明らかとなった。現在までに Nox は 5 種類のアイソザイムが知られており (Nox1-5)、HUVEC における Nox ファミリーの mRNA 発現を検討したところ、Nox2,4 は恒常的に発現し、Nox1 は LPS や IL-8 刺激により誘導されることが明らかとなった。誘導型 Nox である Nox1 の生体内の役割は不明な点が多く、敗血症病態への関与も明らかでないため、Nox1 に焦点を当てて検討を行った。その結果、Nox1 特異的 siRNA で HUVEC を処理したところ、LPS 誘導 ROS 産生が有意に抑制された。 敗血症において、播種性血管内凝固症候群 (DIC) は重要な合併症の一つであり、DIC の発症には凝固カスケードの最上流に位置する組織因子 (tissue factor,TF) の発現が重要な役割を果たす。LPS 刺激により誘導される HUVEC の TF 発現が ROS 消去剤である <i>N</i>-acetylcysteine の前処理により抑制されたことから、TF 発現に ROS が関与することが明らかとなった。また、IL-8 および Nox1 各々の特異的 siRNA を HUVEC に導入したところ、LPS 刺激により誘導される TF 発現が抑制された。 以上の所見から、HUVEC において、LPS 刺激はまず IL-8 産生を誘導し、次いで Nox1 発現を介して ROS を産生し、さらに ROS は TF の発現を誘導することが明らかとなり、IL-8/Nox1 経路は敗血症の病態形成、特に DIC の進展に寄与する可能性が示唆された。敗血症は現在でもしばしば治療に難渋し、致死率の高い疾患である。今後、この IL-8/Nox1 経路を標的とした敗血症や DIC の新たな治療の開発に向けた研究が期待される。			

(論文審査の結果の要旨)			
インターロイキン-8 (IL-8) は好中球遊走活性を有し、敗血症における血管内皮細胞傷害に重要とされるが、血管内皮細胞への直接作用は明らかでない。 血液内科診療では好中球減少時にしばしば重篤な敗血症が認められ、好中球の関与しない敗血症病態の解明が重要な課題となる。申請者らは、組織傷害に重要な役割を果たす活性酸素 (ROS) に焦点を当て、リポ多糖類 (LPS) 刺激ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) の系を用いて、IL-8 による細胞傷害を検討した。その結果、IL-8 が HUVEC の ROS 産生を誘導すること、そして IL-8 受容体抗体や特異的 siRNA 処理による実験から、LPS 刺激 ROS 産生系に IL-8 が関わることを明らかにした。次に、IL-8 が活性酸素産生酵素の一つである Nox1 の発現を誘導することを明らかにし、Nox1 特異的 siRNA 処理による実験から LPS 誘導 ROS 産生系に Nox1 が関わることを示した。さらに、敗血症における凝固異常の起点となる組織因子 (tissue factor, TF) の発現に ROS が関与することを確認し、特異的 siRNA 処理による実験から、TF 発現に IL-8 及び Nox1 が関与することを明らかにした。 本研究は、敗血症における血管内皮細胞傷害・凝固異常に IL-8/Nox1 経路による活性酸素産生が重要であることを明らかにし、敗血症の治療戦略に新たな洞察を与えるものと期待される。 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 23 年 1 月 31 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			