

博士學位論文

内容の要旨

および

審査結果の要旨

令和5年9月

近畿大学大学院

医学研究科

目 次

博士(医学)

博士の学位論文提出者

学位記番号	氏 名	論 文 題 目
医 第 1409号	まさ き しょう 正 木 翔	Expression levels of cellular inhibitor of apoptosis proteins and colitogenic cytokines are inversely correlated with the activation of interferon regulatory factor 4 (腸炎惹起性サイトカイン関連シグナル伝達分子cIAPsの発現は、IRF4の活性化と逆相関する)

博士の学位論文提出者

学位論文審査結果の報告書

氏 名 正木 翔

生 年 月 日 昭和61年11月10日

本 籍 (国 籍) 兵庫県

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 第 1409 号

学位授与の条件
(博士の学位) 学位規程第5条第2項該当

論 文 題 目

Expression levels of cellular inhibitor of apoptosis
proteins and colitogenic cytokines are inversely correlated
with the activation of interferon regulatory factor 4

(腸炎惹起性サイトカイン関連シグナル伝達分子cIAPsの発現は、
IRF4の活性化と逆相関する)

学位論文受理日 2023年 5月 15日

学位論文審査終了日 2023年 7月 19日

審 査 委 員 (主 査) 垣 見 和 宏

(副主査) 岡 田 有

(副主査) 川 村 純 一 郎

指 導 教 員 工 藤 正 俊

論文内容の要旨

【目的】

Cellular inhibitor of apoptosis proteins 1 (cIAP1) および 2 (cIAP2) は、大腸炎発症の免疫応答の根幹である Toll-like receptor (TLR) および Tumor necrosis factor- α (TNF- α) を介する炎症性サイトカインの産生経路に関与していることが示唆されている。また Interferon regulatory factor 4 (IRF4) は TLR シグナル伝達経路の代表的な負の制御因子として報告されている。しかしクローン病や潰瘍性大腸炎の発症において cIAP1 や cIAP2、IRF4 が果たす役割については、未だ十分に解明されていない。本研究では、cIAP1、cIAP2 の活性化が誘導する炎症性サイトカイン反応と IRF4 の関連性について検証した。

【方法】

ヒト樹状細胞 (dendritic cells, DCs) を用いて、試験管内での実験を行った。次に DC 特異的 IRF4 過剰発現マウスを作製し、実験腸炎に対する感受性を調べた。最後にクローン病患者の大腸粘膜サンプルを用いて免疫組織化学的および免疫蛍光分析を行った。

【結果】

ヒト DCs において、cIAP1・cIAP2 の活性化は TLR2・TLR4 を介した炎症性サイトカイン反応を促進した。ヒト DC における cIAP1 および cIAP2 の発現は、IRF4 の存在下で抑制され、その反応は cIAP1 と cIAP2 のポリユビキチン化の抑制に関連していた。DC 特異的 IRF4 過剰発現マウスは野生型マウスと比較して、Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 誘発大腸炎に抵抗性を示し、IRF4 過剰発現マウスでは野生型マウスと比較し、cIAP1 および cIAP2 の発現レベルが低下していた。また DC 特異的 IRF4 過剰発現マウスでは、TLR リガンド刺激による腸管組織における炎症性サイトカイン産生が、野生型マウスに比べ減少していた。クローン病患者の大腸粘膜サンプルにおいて、IRF4 陽性 DC の割合と cIAP1 陽性または cIAP2 陽性細胞の割合の間には負の相関があった。

【考察】

cIAP1/cIAP2 の介在する炎症性サイトカイン反応が IRF4 によって負に制御されている結果となった。IRF4 の発現または機能の増強は、クローン病患者のための新しい治療アプローチとなる可能性が示唆された。

【結論】

cIAP1/cIAP2 の介在する炎症性サイトカイン反応は IRF4 によって負に制御されていた。

	公表年月日	出版物の種類および名称
博士論文の印刷公表	2022年1月17日 公表 (DOI : 10.1093/cei/uxac005.)	博士学位論文 Clinical and Experimental Immunology 第 207 巻 第 3 号 340 ~ 350 頁
	全文	Expression levels of cellular inhibitor of apoptosis proteins and colitogenic cytokines are inversely correlated with the activation of interferon regulatory factor 4.

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】

Cellular inhibitor of apoptosis proteins 1 (cIAP1) および 2 (cIAP2) は、大腸炎発症の免疫応答の根幹であるToll-like receptor (TLR) およびTumor necrosis factor- α (TNF- α) を介する炎症性サイトカインの産生経路に関与していることが示唆されている。またInterferon regulatory factor 4 (IRF4)はTLR シグナル伝達経路の代表的な負の制御因子として報告されている。しかしクローン病や潰瘍性大腸炎の発症においてcIAP1やcIAP2、IRF4が果たす役割については、未だ十分に解明されていない。本研究では、cIAP1、cIAP2の活性化が誘導する炎症性サイトカイン反応とIRF4の関連性について検証した。

【方法】

ヒト樹状細胞 (dendritic cells, DCs) を用いて、試験管内での実験を行った。次にDC特異的IRF4過剰発現マウスを作製し、実験腸炎に対する感受性を調べた。最後にクローン病患者の大腸粘膜サンプルを用いて免疫組織化学的および免疫蛍光分析を行った。

【結果】

ヒトDCsにおいて、cIAP1・cIAP2の活性化はTLR2・TLR4を介した炎症性サイトカイン反応を促進した。ヒトDCにおけるcIAP1およびcIAP2の発現は、IRF4の存在下で抑制され、その反応はcIAP1とcIAP2のポリユビキチン化の抑制に関連していた。DC特異的IRF4過剰発現マウスは野生型マウスと比較して、Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 誘発大腸炎に抵抗性を示し、IRF4過剰発現マウスでは野生型マウスと比較し、cIAP1およびcIAP2の発現レベルが低下していた。またDC特異的IRF4過剰発現マウスでは、TLRリガンド刺激による腸管組織における炎症性サイトカイン産生が、野生型マウスに比べ減少していた。クローン病患者の大腸粘膜サンプルにおいて、IRF4陽性 DCの割合とcIAP1陽性またはcIAP2陽性細胞の割合の間には負の相関があった。

【考察】

cIAP1/cIAP2の介在する炎症性サイトカイン反応がIRF4によって負に制御されている結果となった。IRF4の発現または機能の増強は、クローン病患者のための新しい治療アプローチとなる可能性が示唆された。

【結論】

cIAP1/cIAP2の介在する炎症性サイトカイン反応はIRF4によって負に制御されていた。

2) 審査結果の要旨

岡田教授からは、IRF4の過剰発現によるcIAP発現抑制のメカニズムに関して、一般にユビキチン化すると蛋白量が減るのに、なぜユビキチン化の阻害が蛋白量の低下につながるのか、NOD2遺伝子以外にIRF4遺伝子の機能喪失変異によるクローン病は報告されているのか、アポトーシス阻害作用を持つcIAPに対して、その阻害剤を臨床応用した際の課題について問われた。川村教授からは、日本人のクローン病患者ではNOD2変異はそれほど高頻度に認めないのではないかと、日本人のクローン病患者におけるIRF4-cIAP経路の制御を標的とした治療法は可能であるのか、垣見からは、ユビキチン化による蛋白制御に関するより詳細なメカニズムとIRF4-cIAP経路の関連、アポトーシスに関連する上皮細胞と炎症に関連する樹状細胞におけるIRF4-cIAP経路に関して、また、臨床症例において、潰瘍性大腸炎でのcIAP発現の意義など、多方面にわたる質問が行われた。

これらの質問に対して正木氏は、これまでの研究成果を踏まえ、自身の研究に基づいた具体的な例を挙げながら、きわめて的確に応答した。また、炎症性腸疾患の病態に関して、分子レベルでそのメカニズムを丹念に解明し、モデル動物を用いた個体レベルと実際の臨床検体においてその知見を検証した論文内容からも、正木氏がこの分野の卓越した知識と技量を持つことが確認された。

以上の経過を踏まえ、主査と副主査は合議の上、提出された論文が確かに正木翔氏が自ら主導して行った研究の成果であること、正木翔氏には、学位授与に相応しい学識と専門領域において研究を指導する能力があることを確認し、最終試験を合格と判定した。

3) 最終試験の結果：

審査基準に基づく評価点
A項目 48/50点 46/50点 50/50点
B項目 5/5点 5/5点 5/5点
合

4) 学位授与の可否：可