

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 亜紀

本研究は血液線維素溶解系（線溶系）因子プラスミンが潜在型酵素 Pro-MMPs（マトリックスメタロプロテアーゼ）から活性型 MMPs への活性化へ関与することが知られていることから、プラスミン阻害による MMPs を介したサイトカインのプロセッシングによる炎症反応の活性化制御が可能ではないかと考え、急性移植片対宿主病（急性 GVHD）モデルマウスやエンドトキシンショックモデルマウスにおいて解析を行い、下記の結果を得ている。

1. ヒト造血幹細胞移植後の患者サンプル解析より、プラスミン活性化は急性 GVHD の重症度と相関していることが明らかとなった。
2. 2 種類の主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 不一致による急性 GVHD 発症モデルマウスに対して、神戸学院大学薬学部より提供されたプラスミン阻害剤 YO-2 の効果を検討したところ、生存率の改善を認めた。
3. 急性 GVHD モデルマウスの血漿サンプルの解析を行ったところ、YO-2 投与により TNF- α 、Fas リガンド、IL-1 β 、IL-6、Kit リガンド、単球走化タンパク質-1 (MCP-1)などの、サイトカイン・ケモカインの減少効果を認め、急性 GVHD 関連の組織傷害や炎症細胞の組織浸潤が抑制されていることが明らかとなった。このことより、これらサイトカイン・ケモカインの制御が生存率の改善に繋がっていることが推測された。
4. マウス単球系白血病細胞株を使用した *in vitro* の実験系にて、プラスミン刺激による TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MCP-1 の遺伝子発現レベルの上昇と YO-2 添加による抑制効果を認めた。また、TNF- α 、Fas リガンドにおいては膜型サイトカインから可溶型サイトカインへの細胞外ドメイン分泌（プロセッシング）による活性化が、YO-2 添加により抑制されていることが明らかとなった。
5. プラスミン阻害により様々なサイトカイン・ケモカインが制御されることが明らかとなったが、その中でも特にサイトカインストームと呼ばれる病態の初期の炎症反応に重要なサイトカインである TNF- α のプラスミンによる MMP を介したプロセッシングによる活性化機構について、TNF- α 関連致死的エンドトキシンショックモデルマウスを使用し、更に検討を行った。プラスミノーゲン遺伝子欠損 (*Plg*^{-/-}) マウスや YO-2 投与マウスで血漿中 MMP-9 値と TNF α の低下を認め、MMP-9 遺伝子欠損 (*MMP-9*^{-/-}) マウスで血漿中プラスミン活性の低下は認めないものの TNF- α 値低下を認めたことから、プラスミン阻害による MMP-9 を介した TNF- α 制御機構の重要性が示唆された。

以上、本論文はプラスミン阻害による①MMP を介した炎症性サイトカインのプロセシングによるサイトカイン活性化の制御、②MCP-1 産生抑制による炎症細胞の組織浸潤の阻害、③サイトカインの遺伝子発現量の抑制作用などが明らかとなった。本研究はこれまであまり知られていなかった細胞外プロテアーゼとしての性質を持つプラスミンと炎症性疾患との関係を明らかにすることで、プラスミンは新たな治療標的やバイオマーカーとなり得る可能性があり、学位の授与に値するものと考えられる。