〔課程-2〕

審査の結果の要旨

氏名　　　鈴木　智史

本研究では気道における病原微生物分子の認識に、気道上皮細胞の Pattern Recogniton Receptors が果たす役割を明らかにするため、ヒト気道上皮由来の細胞株(BEAS-2B)を用いて細菌の鞭毛構成成分である flagellin への応答、および細菌のペプチドグリカンを構成する分子であるMDP(muramyl dipeptide)の併存による影響に関して解析を行い、下記の結果を得ている。

1. flagellin(*S. typhimurium* 由来)を含む培養液で刺激を行うことによって、BEAS-2B から産生される炎症性サイトカインを ELISA 法により測定を行った。Interleukin-8(IL-8)の産生の著明な亢進が確認された一方で、IL-6 や IL-1βの産生は微量であった。
2. BEAS-2B 同細胞を TLR-5 中和抗体で処理することで、flagellin 刺激後の IL-8 産生量の低下が認められた。また flagellin 刺激後には、NF-κB の活性化が生じることが Dual luciferasy assay により、MAPK(ERK、p38)のリン酸化が促進されることが SDS-PAGE、Western Blotting(WB)法によりそれぞれ示された。ERK、p38 の阻害薬による前処置でも、flagellin 刺激後の IL-8 産生低下が認められた。以上から、BEAS-2B において、flagellin は TLR5 によって認識され、NF-κB の活性化および MAPK のリン酸化を経て IL-8 産生を促進するというシグナル伝達経路が示された。
3. BEAS-2B を flagellin および MDP で、単独あるいは同時に刺激した際の IL-8 産生量を ELISA 法で検証した。MDP は単独刺激では IL-8 の産生を促進せず、また flagellin と同時に刺激に用いた場合も flagellin 単独刺激時と変化は確認されなかった。
4. BEAS-2B を予め MDP で処置した後に、flagellin で刺激を行うと、flagellin 単独刺激時と比べて IL-8 の産生量が明らかに抑制されることが示された。この抑制効果は、MDP による前処置を 16 および 24 時間行った際に認められた。
5. MDP 前処置の有無で flagellin 刺激後の上記シグナル伝達経路に変化が見られるかについても検証を行った。まず、MAPK(ERK、p38)については、MDP 前処置によりリン酸化が抑制されることが SDS-PAGE、WB 法により確認された。また NF-κB の活性化については、MDP 前処置の有無で明らかな変化が見られなかった。このことから、MDP による前処置は主に MAPK のリン酸化を抑制することで、flagellin 刺激後の IL-8 産生を低下させている可能性が示唆された。

以上、本論文はヒト気道上皮由来細胞株(BEAS-2B)において、flagellin が TLR5 による認識や NF-κB 活性化および MAPK のリン酸化を経て IL-8 の産生を促進すること、および NOD2 の ligand である MDP による前処置によって flagellin 刺激後の IL-8 産生が抑制されることを明らかとした。これらの知見は慢性呼吸器疾患病勢コントロールに細菌由来の分子である MDP が寄与する可能性を示すとともに、様々な Pattern Recogniton Receptors の相互作用の解明に貢献しうると考えられ、学位授与に値するものと考えられた。