

氏名(本籍) : 綿^{わた}引^{ひき}麻^{あさ}美^み(茨城県)

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第897号

学位授与年月日 : 令和2年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程)歯科学専攻

学位論文題目 : 抗炎症因子 Lipin2 の量的制御を介した炎症メカニズムの解明

論文審査委員 : (主査)教授 福本 敏
教授 江草 宏 教授 齋藤 正寛

論文内容要旨

組織内への細菌の侵入に伴って活性化されたマクロファージは、炎症性サイトカイン産生を介して歯周組織の炎症を惹起し歯槽骨吸収を促進することで歯周炎を進行させることが知られている。近年、脂質代謝調節因子であるLipin2が炎症惹起の中核を担うインフラマソームの負の制御因子として機能することが報告され、炎症応答におけるLipin2の役割が注目されているが、その詳細な分子メカニズムは明らかでない。本研究では、マクロファージにおいてLipin2が関与する炎症応答シグナルの詳細な分子機序を同定するとともに、Lipin2活性調節機構解明の観点からLipin2タンパク質分解分子メカニズムを明らかにすることを目的として解析を行った。マウスマクロファージ由来RAW264.7細胞のLipin2(Lpin2)ノックアウト(KO)株を用いたファゴサイトーシスアッセイの結果、細胞貪食能が増大することが観察されたことからLipin2の欠損が、マクロファージのファゴソーム成熟速度とファゴリソソーム形成能を促進させることが示唆された。さらに、DNAマイクロアレイ解析から、Lpin2 KO細胞で、脂質代謝に関連する遺伝子群や脱顆粒関連・サイトカイン産生関連遺伝子群の発現の上昇が認められたほか、リポ多糖(Lipopolysaccharide: LPS)誘導性の顕著なNF- κ B転写活性化が観察された。Lpin2 KOに伴う細胞内シグナル伝達経路への影響をウエスタンブロット解析により検討したところ、Lpin2 KO細胞で、MAP(Mitogen-activated protein)キナーゼおよびNF- κ B(Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)両経路のLPS刺激依存的な過剰な活性化、すなわち炎症応答シグナルの過剰な増幅がみられ、Lipin2が主要な炎症抑制因子として機能していることが示された。次に、Lipin2タンパク質分解調節機構の解明を目的としてLipin2ユビキチン化を触媒するE3ユビキチンリガーゼの同定を試みたところ、Lipin2タンパク質は β -TRCP(beta-Transducin repeat containing protein)を基質認識サブユニットとするSCF(Skp1-Cull1-F-box protein) β -TRCP複合体によってタンパク質安定性の調節を受けていることが明らかとなった。さらにLipin2は、USP2(Ubiquitin

carboxyl-terminal hydrolase 2) による脱ユビキチン化を受けて安定化することもあわせて示された。Lipin2同様、USP2はマクロファージにおいて炎症抑制因子として機能していることから、USP2抗炎症機能はLipin2の脱ユビキチン化を介している可能性が示唆された。以上の結果から、Lipin2は、マクロファージ活性化ならびに炎症関連遺伝子群の発現を負に調節する主要な炎症抑制因子であるほか、Lipin2抗炎症活性は、炎症応答の際にそのタンパク質安定性がユビキチン化と脱ユビキチン化を受けることで精巧に制御されていることが明らかとなった。

審査結果要旨

組織内への細菌の侵入に伴って活性化されたマクロファージは、炎症性サイトカイン産生を介して歯周組織の炎症を惹起し歯槽骨吸収を促進することで歯周炎を進行させることが知られている。近年、脂質代謝調節因子であるLipin2が炎症惹起の中核を担うインフラマソームの負の制御因子として機能することが報告され、炎症応答におけるLipin2の役割が注目されているが、その詳細な分子メカニズムは明らかでない。本研究では、マクロファージにおいてLipin2が関与する炎症応答シグナルの詳細な分子機序を同定するとともに、Lipin2活性調節機構解明の観点からLipin2タンパク質分解分子メカニズムを明らかにすることを目的として解析を行っている。マウスマクロファージ由来RAW264.7細胞のLipin2欠損株を用いたファゴサイトーシスアッセイの結果、細胞貪食能が増大することが観察されたことからLipin2の欠損が、マクロファージのファゴソーム成熟速度とファゴリソーム形成能を促進させることが示唆された。さらに、DNAマイクロアレイ解析から、Lipin2欠損細胞で、脂質代謝に関連する遺伝子群や脱顆粒関連・サイトカイン産生関連遺伝子群の発現の上昇が認められたほか、リポ多糖（LPS）誘導性の顕著なNF- κ B転写活性化が観察された。Lipin2欠損に伴う細胞内シグナル伝達経路への影響をウエスタンブロット解析により検討したところ、MAPキナーゼおよびNF- κ B両経路のLPS刺激依存的な過剰活性化、すなわち炎症応答シグナルの過剰な増幅がみられ、Lipin2が主要な炎症抑制因子として機能していることが示された。次に、Lipin2タンパク質分解調節機構の解明を目的としてLipin2ユビキチン化を触媒するE3ユビキチンリガーゼの同定を試みたところ、Lipin2タンパク質は β -TRCPを基質認識サブユニットとするSCF $_{\beta$ -TRCP}複合体によってタンパク質安定性の調節を受けていることが明らかとなった。以上の結果から、本研究では、Lipin2はマクロファージ活性化ならびに炎症関連遺伝子群の発現を負に調節する主要な炎症抑制因子であるほか、炎症応答の際にそのタンパク質安定性がユビキチン化と脱ユビキチン化を受けることで精巧に制御されていることを明らかにしている。

本研究では、歯周疾患における抗炎症治療を目的としてLipin2の分子機能を明らかにした。本研究の成果は新たな抗炎症治療の開発に寄与するものであり、歯科全般の臨床領域に学術的貢献をし得ることから 博士（歯学）の学位論文として相応しいと判断する。