氏　　名	工藤（くどう）　大介（だいすけ）
学位の種類	博士（医学）
学位授与年月日	平成25年3月27日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学専攻
学位論文題目	マウス劇症型呼吸窮迫症候群モデルを用いたインターフェロン－アルファと遺伝子組換えトロンボモジュリンの治療効果
論文審査委員	主査　教授　久志本成樹　　教授　川上　和義 特命教授　黒澤　伸　　教授　張替　秀郎

論文内容要旨

【背景と目的】ARDS（Acute respiratory distress syndrome;急性呼吸窮迫症候群）は、様々な基礎疾患が原因の肺重度炎症病態であるが、現在のところ有効な治療法は確立されていない。IFN（Interferon）-α は、抗ウイルス薬として知られているが、近年抗炎症作用も報告されている。HMGB1 (High mobility group box 1)は、DNA 結合タンパク質として発見されたが、最近は急性肺傷害のメディエーターとしても作用することがわかってきた。rTM（recombinant thrombomodulin;遺伝子組換えトロンボモジュリン）は、抗凝固作用に加えて HMGB1 を中和することにより炎症反応を抑制する作用も持つ。肺の Treg 細胞（regulatory T cell;制御性 T 細胞）は、急性肺傷害の回復期に炎症反応を制御することが報告されている。以上の知見を踏まえて、マウス劇症型 ARDS モデルを使用して、治療薬として IFN-α や rTM の ARDS に対する有効性を検証するとともに、病態や薬剤の作用機序における HMGB1 や Treg 細胞の関与を検証することを目的とした。【方法と結果】野生型マウスに α-GalCer (α-galactosylceramide)を気管内投与し、肺 Natural Killer T 細胞を活性化し、24 時間後に再び LPS (lipopolysaccharide)を気管内投与することで、マウス劇症型 ARDS モデルを作成した。治療薬として低容量 IFN-α を劇症型 ARDS マウスに経鼻投与すると、生存期間が延長した。低容量 IFN-α 投与は、ARDS 病理組織学的特徴であるびまん性肺胞傷害を軽減し、肺湿乾重量比で評価した肺水腫も軽減した。さらに、低容量 IFN-α 投与マウス群では、対照マウス群と比較して、肺で産生される IFN-γ 量が明らかに減少した。肺 HMGB1 濃度は、LPS 単独投与による肺傷害（LPS 誘発肺傷害）マウス群と比較して劇症型 ARDS マウス群で、明らかに高値であった。免疫組織化学分析では、肺に浸潤し

た好中球およびマクロファージでHMGB1が陽性であった。フローサイトメトリーによる解析では、肺のTreg細胞は、LPS誘発肺傷害マウス群と比較して劇症型ARDSマウス群では、明らかに減少していた。治療薬としてrTM投与により、劇症型ARDSマウスの生存期間は延長し、びまん性肺胞傷害も軽減された。rTM投与マウス群では、対照マウス群と比べて、肺のTreg細胞および抗炎症性サイトカインである肺でのIL-10およびTGF (Transforming growth factor)- β産生量が高かった。【結論】1) 低容量IFN-αは劇症型ARDSマウスに対して抗炎症効果および治療効果を示し、肺で産生されるIFN-γ量を減少させることが機序に関わっている可能性がある。2) HMGB1は劇症型ARDS病態形成に関与する可能性があり、rTMは劇症型ARDSに対して治療効果を示す。3) rTMの治療効果はTreg細胞に対する作用の可能性が示唆される。これらの知見は、ARDS患者に対する治療法の開発に繋がる可能性があることが期待された。

【所定様式⑬No.1】大学院の課程による者（課程博-医学）

審　査　結　果　の　要　旨

博士論文題目　マウス劇症型呼吸窮迫症候群モデルを用いたインターフェロン- アルファと遺伝子組換えトロンボモジュリンの治療効果

所属専攻・分野名　医科学専攻　・　外科病態学講座救急医学　分野

学籍番号　　氏名　工藤　大介

肺の重度炎症病態であるARDS（Acute respiratory distress syndrome; 急性呼吸窮迫症候群）は、高い死亡率にもかかわらず、基礎疾患の治療と肺に保護的な呼吸管理以外には、現在のところ有効な治療法は確立されていない。ARDS の病態形成には、サイトカインなどの炎症性メディエーターが中心的役割を果たし、肺の Treg 細胞（regulatory T cell; 制御性 T 細胞）による回復期における炎症制御が重要であることが報告されている。申請者は、これらを背景とし、①抗炎症作用を有する IFN（Interferon）-α、②DNA 結合タンパク質であるとともに急性肺傷害のメディエーターとして作用する HMGB1 (High mobility group box 1)、③ 抗凝固作用に加えて HMGB1 を中和することにより炎症反応を抑制する作用も持つ rTM（recombinant thrombomodulin; 遺伝子組換えトロンボモジュリン）に注目し、マウス劇症型 ARDS モデルを使用して、治療薬としての IFN-α や rTM の有効性を検証するとともに、病態や薬剤の作用機序における HMGB1 や Treg 細胞の関与を検証した。

申請者は、野生型マウスに、Natural Killer T 細胞を活性化する α-galactosylceramide)気管内投与し、24 時間後に LPS (lipopolysaccharide)を気管内投与することで劇症型 ARDS モデルを作成した。結果として、①治療薬としての低容量 IFN-α の投与により生存期間が延長し、ARDS 病理組織学的特徴であるびまん性肺胞傷害を軽減し、肺湿乾重量比で評価した肺水腫も軽減すること、さらに、対照マウス群と比較して、肺で産生される IFN-γ 量が明らかに減少することを示した。また、②HMGB1 の病態形成への関与に関して、肺 HMGB1 濃度は LPS 単独投与による肺傷害（LPS 誘発肺傷害）マウス群と比較して、劇症型 ARDS マウス群で高値であることを明らかにした。③免疫組織化学分析では、肺に浸潤した好中球およびマクロファージで HMGB1 が陽性であり、フローサイトメトリーによる解析により、肺の Treg 細胞は LPS 誘発肺傷害マウス群と比較して劇症型 ARDS マウス群では明らかに減少していることを示した。④治療薬としての rTM 投与は、肺の Treg 細胞および抗炎症性サイトカインである肺での IL-10 および TGF (Transforming growth factor)- β 産生量を増加し、びまん性肺胞傷害も軽減するとともに、生存期間の延長効果を有すること明らかにした。

これらの研究結果から、1) 低容量 IFN-α は劇症型 ARDS マウスに対して抗炎症効果および治療効果を示し、肺で産生される IFN-γ 量を減少させることが機序に関わっている可能性があること、2) HMGB1 は劇症型 ARDS 病態形成に関与する可能性があり、rTM は劇症型 ARDS に対して治療効果を示すこと、3) rTM の治療効果は Treg 細胞に対する作用の可能性を示し、これらの知見は、ARDS 患者に対する治療法の開発に繋がる可能性があることが期待された。

本研究内容は重症病態の解析と治療に新たな側面を展開し、その進歩に大きく寄与することが考えられるとともに、申請者は、第一次審査において本研究内容を適切に呈示し、審査者の質問・意見に対して適切に回答した。そのため、最終審査は書面によるものとしたが、審査者の指摘・意見に基づき論文を修正するとともに適切に回答を行った。申請者は、研究および論文作成力だけでなく、十分な外国語能力を有し、また学術研究における指導力も高いレベルで有するものである。

よって，本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。