

## 学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・⑨	第 号	氏 名	日高 正剛
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	極々あゆみ (印)	
	副査氏名	北野 敬明 (印)	
	副査氏名	宮崎 英士 (印)	
論文題目 Gabexate Mesilate Inhibits the Expression of HMGB1 in Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury (メシル酸ガベキセートは LPS 誘発急性肺傷害において HMGB1 発現を抑制する)			
論文掲載誌名 Journal of Surgical Research (in press)			
論文要旨 敗血症は過度の炎症反応で惹起される凝固異常，急性肺傷害から多臓器不全へと進展し，最終的に死に至ることが多い。この過程において，比較的晩期に血中濃度が上昇する HMGB1 (high Mobility Group Box 1) が臓器傷害の増悪に大きく関与することが示されている。HMGB1 は LPS (lipopolysaccharide) 刺激や細胞障害により細胞外に放出されると，炎症性メディエーターとして作用し，更なる炎症増悪を引き起こす。 一方，メシル酸ガベキセート (GM) は蛋白分解酵素阻害剤で，LPS で惹起される凝固異常と肺血管傷害を抑制し，敗血症患者の急性肺傷害を軽減する可能性が示唆されている。今回 GM の肺傷害軽減効果に HMGB1 制御が関与するかについて in vivo および in vitro で検討した。 ラットに GM もしくは生理食塩水を投与した後に LPS を投与し，肺組織の傷害度，組織中 HMGB1，PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)，PAR-2 (protease-activated receptor-2) の発現量を比較した。また，経時的な血清中 HMGB1 濃度ならびにサイトカイン濃度の変化も比較した。GM 投与により肺組織傷害を有意に軽減した。この際，血清および組織中の HMGB1 濃度は低下しており，さらに組織中 PAI-1，PAR-2 発現も減少していた。in vitro study では，マウスマクロファージ細胞を使用して GM 投与下で LPS 刺激を行い，上清中の HMGB1 量とサイトカイン量を測定，また細胞内シグナルに与える影響について検討した。in vitro study では，GM 投与により上清中への HMGB1，サイトカインの放出が低下した。この時，細胞内シグナルを検討すると，IkB のリン酸化が抑制されており，核内への NF- $\kappa$ B の移行が抑制されていた。  本論文は GM を投与することにより，エンドトキシンショックモデルにおける肺傷害を軽減し，in vivo 及び in vitro いずれの研究においても，HMGB1 の抑制を示し，敗血症性ショック等において GM を早期に投与することで HMGB1 を中心とした各種メディエーターを制御し，結果として敗血症における病態改善効果の可能性を示した重要な研究と考えられる。この研究の価値を考慮し，審査員の合議により学位論文に値するものと判定した。			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 日高 正剛

## 論 文 題 目

Gabexate Mesilate Inhibits the Expression of HMGB1 in Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury

(メシル酸ガベキセートは LPS 誘発急性肺傷害において HMGB1 発現を抑制する)

## 要 旨

## 緒言

敗血症は依然として致死率の高い重篤な病態であり、過度の炎症反応で惹起される凝固異常、急性肺傷害から多臓器不全へと進展し、最終的に死に至ることが多い。この過程において、比較的晩期に血中濃度が上昇する HMGB1 (high Mobility Group Box 1) が臓器傷害の増悪に大きく関与することが示されている。HMGB1 は DNA 構造を維持する上で必要な核内蛋白であるが、LPS (lipopolysaccharide) 刺激や細胞障害により細胞外に放出されると、炎症性メディエーターとして作用し更なる炎症増悪を引き起こす。近年の研究では、各種敗血症モデルにおける HMGB1 制御の有効性が多数報告されている。

一方、メシル酸ガベキセート (GM) は、蛋白分解酵素阻害剤であるが抗凝固作用や抗炎症作用など様々な生物活性を有し、LPS で惹起される凝固異常と肺血管傷害を抑制し、敗血症患者の急性肺傷害を軽減する可能性が示唆されている。

今回我々は、GM の肺傷害軽減効果に HMGB1 制御が関与するかについて検討した。

## 研究対象及び方法

In vivo study では、ラットに GM もしくは生理食塩水を投与した後に LPS を投与し、肺組織の変化を調べた。肺組織の傷害度、組織中 HMGB1、PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)、PAR-2 (protease-activated receptor-2) の発現量を比較した。また、経時的な血清中 HMGB1 濃度ならびにサイトカイン濃度の変化も比較している。In vitro study では、マウスマクロファージ細胞を使用して GM 投与下で LPS 刺激を行い、上清中の HMGB1 量とサイトカイン量を測定、また細胞内シグナルに与える影響について検討した。

## 結果

In vivo study では、GM 投与により肺組織傷害を有意に軽減することができた。この際、血清および組織中の HMGB1 濃度は低下しており、さらに組織中 PAI-1、PAR-2 発現も減少していた。

In vitro study では、GM 投与により上清中への HMGB1、サイトカインの放出が低下した。この時に細胞内シグナルを検討すると、IkB のリン酸化が抑制されており、核内への NF- $\kappa$ B の移行が抑制されていた。

## 考察

GM は、エンドトキシンショックモデルにおける肺傷害を軽減した。肺組織中の PAI-1、PAR-2、HMGB1 の発現量は減少しており、GM はサイトカイン産生抑制により炎症反応を軽減し、HMGB1 発現を抑制して肺保護的に作用することが示唆された。このような GM の効果は、核内への NF- $\kappa$ B の移行が抑制されることが関与しており、メカニズムとしては細胞内シグナル伝達経路の IkB のリン酸化を中心に制御することでサイトカイン並びに HMGB1 が抑制されたと考えられる。

## 結語

今回の結果から、GM は敗血症の病態において HMGB1 抑制により肺保護的に作用することが示された。このような GM の作用は、過度の炎症反応で惹起される凝固異常と肺傷害の併存が多い敗血症患者にとって、有効性が高いと考えられる。