

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 号	氏 名	長谷川 輝
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	梅 山 英 典 (梅)	
	副査氏名	佐藤 文 彦 (佐)	
	副査氏名	松 浦 真 子 (松)	
論文題目 Relationship Between HMGB1 and Tissue Protective Effects of HSP72 in a LPS-Induced Systemic Inflammation Model (LPS 誘発全身性炎症モデルにおける HSP72 の組織保護効果と HMGB1 との関係について)			
論文掲載誌名 Journal of Surgical Research (in press)			
論文要旨 近年、急性呼吸障害を生じると全身状態の悪化を招き、治療に難渋するケースが少なくない。核内タンパク質として存在が知られていた HMGB1 (High Mobility Group Box 1) は強い炎症が生じた際に、細胞外に放出され、炎症の増悪等を起こす。比較的晩期に血清中の濃度が上昇し、個体の死亡と関係していることが明らかになり、晩期致命的メディエーターとして注目されている。さらに、肺障害に関与した重症病態における HMGB1 の重要性が指摘されている。 一方、温熱ストレスを加えると Heat Shock Protein 72 (HSP72) が細胞内に誘導されるが、HSP72 は生体に作用した侵襲に対して、細胞および臓器を保護する効果があることが知られている。そこで、LPS 誘発肺障害モデルを用いて、HSP72 の誘導によりサイトカインや HMGB1 の抑制を生じさせ、肺障害を軽減できるか、また、最終的に生存率改善につながるか否かについて in vivo および in vitro で検討した。【研究対象及び方法】Wistar 系雄性ラットを全身麻酔下加温ブランケットで 42°C 15 分間の温熱ストレスを加えて HSP72 を誘導した群と全身麻酔のみのコントロール群を作成。温熱ストレス 48 時間後に LPS を静脈内投与することで LPS 誘発全身性炎症モデルを作成し、経時的に採血し、サイトカイン、HMGB1 濃度、肺組織での HSP72、HMGB1 の発現、両群の生存率について検討した。さらに、マウスマクロファージ系細胞の RAW264.7 細胞を用いて温熱ストレスによる HSP72 誘導群、温熱ストレスと HSP72 siRNA 処理を行う HSP72 発現抑制群、無処理のコントロール群を作成した。各培養群にエンドトキシンを添加し、培養上清中への HMGB1 発現量変化の検討を行った。【結果及び考察】LPS 投与のみの群では生存率 33% に対して温熱処理を行った群は 78% と有意に上昇した。また、IL-6、TNF- α 、HMGB1 の血中濃度の推移も温熱処理を行った群で有意に低値を示した。また、肺組織検討においても温熱処理を行った群の炎症所見は改善していた。さらに、in vitro 実験で、LPS 刺激による上清中の HMGB1 発現は温熱処理により有意に軽減したが、siRNA 処理により HSP72 の誘導を抑制することで、この反応は拮抗された。【結語】温熱処理は HSP72 を誘導することで LPS 投与全身性炎症モデルの生存率、炎症反応を改善した。これは HSP72 の作用で HMGB1 の発現抑制と関連していると考えられた。 本論文はエンドトキシンショックモデルにおける肺傷害について、in vivo 及び in vitro いずれの研究においても、HSP72 の作用により 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 長谷川 輝

論 文 題 目

Relationship Between HMGB1 and Tissue Protective Effects of HSP72 in a LPS-Induced Systemic Inflammation Model

(LPS 誘発全身性炎症モデルにおける HSP72 の組織保護効果と HMGB1 との関係について)

要 旨

【緒言】

近年、各種疾患により惹起された全身性炎症反応により生じる各種臓器障害が問題になっている。臓器障害の一つとして特に問題になるもののひとつに、急性呼吸障害があげられる。本疾患を生じると更なる全身状態の悪化を招き、治療に難渋するケースも少なくない。近年の研究において、元来 DNA の構造保持に関与する核内タンパク質として存在が知られていた HMGB1 (High Mobility Group Box 1) に新たな作用があることが分かってきた。核内にある HMGB1 は強い炎症が生じた際に、細胞外に放出され、炎症の惹起等を起こすことが報告された。また HMGB1 の特徴として、他の炎症性サイトカインに比べて比較的晩期になってから血清中の濃度が上昇すること、また、その上昇が個体の死亡と関係していることが知られており、晩期致命的メディエーターとして注目されている。

さらに、肺障害とも関係しており、重症病態における HMGB1 の重要性が言われている。

一方、生体に対して、温熱ストレスを加えると Heat Shock Protein と言われる、一群のタンパク質が細胞内に誘導されることが知られている。この一群のタンパク質の一つに

Heat Shock Protein 72(HSP72)がある。HSP72は生体に作用した侵襲に対して、細胞および臓器を保護する効果があることが知られている。そこで、我々は、LPS誘発肺障害モデルを用いて、HSP72の誘導によりサイトカインやHMGB1の抑制を生じさせ、肺障害を軽減できるか、また、最終的に生存率改善につながるか否かについて検討した。さらに、HSP72とHMGB1の関係について培養系細胞を用いて検討した。

【研究対象及び方法】

Wistar系雄性ラットを無作為に全身麻酔下加温ブランケットで42°C15分間の温熱ストレスを加えることによりHSP72を誘導した群と全身麻酔のみのコントロール群を作成。温熱ストレス48時間後にLPSを静脈内投与することでLPS誘発全身性炎症モデルを作成した。その後、経時的に採血し、サイトカイン、HMGB1濃度、肺組織でのHSP72、HMGB1の発現、両群の生存率について検討した。さらに、培養細胞であるマウスマクロファージ系細胞であるRAW264.7細胞を用いて温熱ストレスによるHSP72誘導群、温熱ストレスとHSP72siRNA処理を行うHSP72発現抑制群、無処理のコントロール群を作成した。その後、各培養群にエンドトキシンを添加し、培養上清中へのHMGB1発現量変化の検討を行った。

【結果及び考察】

LPS投与のみの群では生存率33%に対して温熱処理を行った群は78%と有意に上昇していた。また、IL-6、TNF- α 、HMGB1の血中濃度の推移も温熱処理を行った群で有意に低値を示していた。また、肺組織検討においても温熱処理を行った群の炎症所見は改善していた。さらに、細胞培養系の実験において、LPS刺激による上清中へのHMGB1発現は温熱処理により有意に軽減したが、siRNA処理によりHSP72の誘導を抑制しておくことで、この反応は拮抗された。

【結語】

温熱処理によりHSP72を誘導することはLPS投与全身性炎症モデルの生存率、炎症反応を改善した。これはHMGB1の発現抑制と関連し、この抑制はHSP72によるHMGB1分泌の抑制と関係していると考えられた。