

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	浅 井 一 樹
主 論 文 題 名 The Necroptosis Pathway Is Upregulated in the Cornea in Mice With Ocular Graft-Versus-Host Disease (眼移植片対宿主病モデルマウスの角膜におけるネクロプトーシス経路の活性化について)				
(内 容 の 要 旨) 慢性移植片対宿主病 (Graft-versus-host disease : GVHD) は造血幹細胞移植の長期合併症である。眼GVHDでは角膜において上皮障害、糸状角膜炎、潰瘍、菲薄化、融解、穿孔、瘢痕化、結膜化、遷延性上皮欠損、輪部幹細胞の減少や新生血管など多様な症状を呈するが、その分子病態は殆ど明確になっていない。 Proteomicsは、シグナル伝達や分子レベルでの疾患病因の解明に有用な手法である。本研究では、慢性GVHDマウスモデルを用いて、角膜のProteomeと生物学的経路を同定することを目的とした。 7から9週齢のB10.D2.マウスとBALB/cマウスを用い、同種異系間で骨髄移植を行うことでGVHDマウスを、同種同系間で移植を行うことでGVHDを発症しない対照群を作成した。移植後約3週時にGVHD群のみ眼GVHDを発症した。移植後4週でGVHD群5匹と対照群5匹から角膜を採取し、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 (Liquid chromatography tandem mass spectrometry : LC-MS/MS) による解析を行った。2群間の比較はWilcoxon signed-rank testを行い、fold change > 2 or < 0.5かつP < 0.05の分子を抽出した。GVHDで活性化しているPathwayを調べるためにGene Ontology (GO) 解析とReactome解析を行った。 GO解析及びReactome解析では、自然免疫系や好中球の脱顆粒などの自然免疫に関与するpathwayがGVHD群とControl群で異なっていることを示した。 さらに詳細に分子メカニズムを解析するため、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysisを行った。 KEGG解析の結果、GVHDマウス角膜では、(1) ネクロプトーシス経路、(2) Mitogen 活性化プロテインキナーゼ経路、(3) 好中球細胞外トラップ経路の3つの重要なシグナル伝達経路が活性化していた。上昇した分子に着目すると、(1) ではReceptor-interacting protein kinase (RIPK) 1、RIPK3、Interferon regulatory factor 9、Interferon-induced double-stranded RNA-activated protein kinase lipoxigenase及び、ダメージ関連分子パターン (Damage associated molecular patterns ; DAMPs) の一種であるHigh mobility group box 1が増加、(2) ではInterleukin 1 receptor-associated kinase、Evolutionarily conserved signaling intermediate in the Toll pathway、p38とRac2の増加を認めた。(3) では上記に加え、Macrophage-1 antigen とpyroptosisに関与する Gasdermin D の増加を認めた。 以上の通り、GVHDを発症したマウスの角膜において、3つのシグナル伝達経路の活性化と新規タンパク質を同定した。GVHDマウスの角膜におけるこれらの新規タンパク質とシグナル伝達経路の同定は、本疾患の病態解明や、不可逆的な変化を防ぐ新規治療法の開発につながる可能性を示している。				