

## 論文審査の結果の要旨

氏名：深澤麻衣

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：脳虚血において脾臓に発現する HMGB-1 陽性細胞はミノサイクリン投与により減少する

審査委員：（主査） 教授 篠田雅路

（副査） 教授 飯沼利光 教授 浅野正岳

教授 松村英雄

Damage-associated molecular patterns (DAMPs) とは、生体内の細胞が障害された時に、その危機的状況を周囲の細胞や組織に知らせるために、細胞外に放出される物質の総称で、alarmin とも呼ばれている。一般に微生物の感染を伴わずに惹起される炎症を sterile inflammation といい、この反応において主役を演じるのが、alarmin である。代表的なものに high mobility group box protein-1 (HMGB-1) がある。

HMGB-1 は、マクロファージを lipopolysaccharide で刺激することにより、細胞外に放出された物質の網羅的検索により発見された分子量 30 kDa のタンパク質である。非ヒストン DNA 結合タンパク質として核内に存在し、ヌクレオソームの構造を維持することによって遺伝子の転写調節に関与している。HMGB-1 が細胞の壊死に際して、受動的に核外に放出されることが明らかになって以来、HMGB-1 の DAMPs としての機能に注目が集まっている。

ラットでの片側総頸動脈結紮により誘導される脳虚血に際して、脳内のミクログリアが活性化され、これに伴って脾臓における HMGB-1 陽性細胞数が増加すること、末梢血中の HMGB-1 濃度が上昇することがすでに報告されている。しかし、この分子メカニズムについては不明な点が多い。

そこで本研究では、種々の遺伝子変異モデルが存在するマウスを用いて詳細なメカニズムを検索することを目的として、マウスにおいても同様の現象が認められるか否かについて検討を行った。また、ミクログリアの活性化を抑制するミノサイクリンの投与による、脾臓に発現する HMGB-1 陽性細胞数の変化について検討した。

本実験では、5 週齢雄性マウスを 1 週間順化させたのち、3 種混合麻酔薬による全身麻酔下にて右側総頸動脈を剖出し、4-0 ナイロン糸により 60 分間結紮を行い、脳虚血状態を誘導した。その後、結紮を解除し縫合したものを脳虚血モデルマウスとした。さらに、術前にミクログリアの活性化抑制薬であるミノサイクリンを腹腔内注射し、その作用を検討した。

その結果、以下の結論を得た。

- 1 片側総頸動脈を結紮することにより、脾臓の容積は縮小した。
- 2 片側総頸動脈を結紮することにより生じた脳虚血に伴い、赤脾髄において HMGB-1 陽性細胞数はコントロールと比較して有意な増加を認めた。
- 3 Western blotting により、脾臓溶解液中の HMGB-1 タンパク量が、コントロールと比較して増加することが確認された。
- 4 脳虚血に伴って脾臓で増加した HMGB-1 陽性細胞数は、ミノサイクリンの投与により減少した。

以上のことから、脳虚血モデルマウスの脾臓では、HMGB-1 陽性細胞数が増加し、その増加は脳の免疫細胞の活性化を抑制するミノサイクリンの投与により減少することが明らかとなった。このことから、脳における障害と脾臓が緊密に関連していることが予測され、この関連メカニズムを解明するうえで本研究から得られた結果がもたらす意義は高く、歯科医学ならびに関係分野に貢献するところ大なるものと考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

令和 3 年 3 月 10 日