

審査の結果の要旨

氏名 大田 幹

本研究は、免疫担当細胞において炎症性サイトカイン発現や細胞増殖の制御に関わるとされる、**p38 α Mitogen-Activated Protein Kinase (p38 α)**の **Graft-versus-Host Disease (GVHD)** 腸炎の病態への関与を明らかにするために、**p38 α** ノックアウトマウスを用いた急性 **GVHD** 腸炎モデルを作成し、**p38 α** の **GVHD** 腸炎の病態に果たす役割について検討を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. **GVHD** 誘発マウス群の移植後の生存日数について検討した所、野生型マウスを移植ドナーとした **GVHD** 誘発マウス群 (**WT** 群) の平均生存日数は **30.8 \pm 2.7** 日、**p38 α ^{+/-}**マウスを移植ドナーとした **GVHD** 誘発マウス群 (**p38 α ^{+/-}**群) で **19.5 \pm 1.5** 日であり、**p38 α ^{+/-}**群で有意な生存期間の短縮を認めた。また観察期間中のマウスの体重変化の検討においても **p38 α ^{+/-}**群で体重減少が有意に増悪することを明らかにした。
2. 移植後第 **21** 日に **GVHD** 誘発マウス群の腸管病理組織を評価した。**p38 α ^{+/-}**群の腸管組織では腸管上皮や固有層への著明なリンパ球の浸潤、陰窩組織の破壊等の病理所見を認め、**WT** 群に比して明らかな **GVHD** 腸炎の組織学的増悪を認めた。また **TUNEL** アッセイを用いて **p38 α ^{+/-}**群で野生型群に比して有意な腸管上皮アポトーシス細胞数が増加していることを示した。
3. 両 **GVHD** 誘発マウス群より経時的に **Intestinal intraepithelial lymphocytes (IEL)**と **Mesenteric lymph nodes lymphocytes (MLNL)**を回収して、フローサイトメトリー解析によってドナー由来リンパ球数を検討した。野生型群においては **IEL**、**MLNL** 数とも移植第 **12** 日にピークに達して、その後は減少傾向にあることが示された。一方 **p38 α ^{+/-}**群では、ドナー由来 **MLNL** 数は移植第 **12** 日をピークとしていずれの時期においても **WT** 群に比して有意な細胞数の減少を認めたが、**IEL** 数は第 **12** 日以降も減少しないことが示された。
4. **MLNL** での各種炎症性サイトカイン発現量を定量的 **RT-PCR** にて定量した。両 **GVHD** 誘発マウス群とも第 **12** 日には **IFN- γ** の著明な上昇、および **IL-4** の発現低下を引き起こすことを確認した。さらに **IL-12p40** と **IL-18** の発現量も、移植後第 **12** 日に **WT** 群

で有意な上昇を認めたが、これらの発現上昇は p38 α ^{+/-}群で有意に抑制されることを明らかにした。また IL-4 も p38 α ^{+/-}群で WT 群に比して有意に発現が低下することも明らかにした。

5. 移植後第 2 1 日に両 GVHD 誘発マウス群から回収したドナー由来 IEL を用いて *in vitro* 培養下における生存率の検討をした。Tripa blue 染色や LDH アッセイによる解析から、p38 α ^{+/-}由来 IEL で WT 由来 IEL に比して有意に生存率が上昇することを明らかにした。
6. 移植後第 2 1 日に腸管組織中の TNF- α 発現量を ELISA 法を用いて、p38 α ^{+/-}群では WT 群に比して有意に TNF- α が上昇することを明らかにした。さらに両 GVHD 誘発マウス群より経時的に回収した IEL を用いての定量的 RT-PCR 解析によって、移植後 12 日以降においては p38 α ^{+/-}由来 IEL での TNF- α 発現量が WT 群に比して有意に上昇することを明らかにした。

以上、本論文はドナー由来移植細胞における p38 α の発現低下が GVHD 腸炎の臨床的また組織学的な増悪に寄与することを示した初めての報告である。本研究からは、p38 α が急性 GVHD 腸炎においては単に炎症反応を促進させるのみならず抗炎症作用も併せ持つという、p38 α の生体内での複雑な分子作用機序の存在が示唆され、p38 α の生体内炎症反応における機能の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。

尚、審査会時点から、論文の内容について以下の点が改訂された。

1. 全体の文章構成を見直し、不適切な表現を改めた。
2. 統計上の表記および方法を適切なものに改めた。
3. 目的および考察を適切なものに改めた。
4. 本文の最後に結語を記載した。