HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウス炎症性腸疾患モデルにおける新規抗炎症薬3-[(dodecylthiocarbonyl)methyl]glutarimideによる炎症抑制効果に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	市川, 伸樹
Description	配架番号：2244
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12346号
Issue Date	2016-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62533
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Nobuki_Ichikawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　市川　伸樹

	主査　教授	坂本直哉
審査担当者	副査　教授	渥美達也
	副査　教授	村上正晃
	副査　教授	有川二郎

学 位 論 文 題 名

マウス炎症性腸疾患モデルにおける新規抗炎症薬 3-[(dodecylthiocarbonyl) methyl]glutarimide による炎症抑制効果に関する研究
(Studies on Anti-inflammatory Effect of 3-[(dodecylthiocarbonyl) methyl]-glutarimide on Murine Models of Inflammatory Bowel Disease)

本研究では,3-[(dodecylthiocarbonyl)methyl]glutarimide (DTCM-G) が,TNBS 腸炎,DSS 腸炎において著明な腸炎抑制効果を有する事,TNBS 腸炎においてマクロファージ,CD4 陽性 T 細胞,好中球の浸潤を抑制し, TNF-α, IL-6, MCP-1, IFN-γ の mRNA 発現を抑制する事,RAW264.7 細胞株において LPS 刺激による TNF-α, IL-6 の産生を抑制し GSK-3β のリン酸化を亢進させる事を発表した.

審査にあたり,まず副査である有川教授から,①それぞれのモデルとヒトの病態の類似点,②TNBS 腸炎が 4 日目以降に軽快していく事の解釈,③遺伝子改編マウス,免疫欠損マウスへの細胞移入などを利用した場合予想される結果に関して質問があり,申請者は,①TNBS 腸炎は Th1 によって誘導され全層性の炎症がおこるクローン病類似モデルで,DSS 腸炎が全層に及ばず Th2 寄りの炎症が起こる潰瘍性大腸炎類似モデルとして用いた.②単回の薬液注入で起こる腸炎なので自然軽快する.その意味ではクローン病とは異なる.③SCID マウスにナイーブ T 細胞を移入する腸炎モデルがあり,T 細胞の解析に適し,Th1 の増殖能解析などに於いて有用であった可能性があると回答した.副査の村上教授からは, ①マクロファージ/T 細胞浸潤抑制のピークが 2 日目である事と,腸炎の軽快が臨床上 4 日目である事の解離と関して,②LPMC 解析でのリンパ球全体の収量の変化と NK 細胞の評価について,③両モデルで T 細胞とマクロファージのどちらが DTCM-G の作用の中心か,④LPMC 検討で, 腸炎群よりナイーブ群の増殖能が高かった事について,類似研究の報告を踏まえてどう解釈するか,⑤RAW264.7 を用いた実験で c-jun,c-fos を評価するべきであったかどうか質問があり,申請者は, ①2 日目のマクロファージ/T 細胞の浸潤抑制の結果として,後続する好中球の浸潤抑制と臨床上の軽快が起こったという解釈をしたが,好中球を含めた他の因子が腸炎の軽快に寄与した可能性が否定できない.②リンパ球の収量は DTCM-G 投与で減少する.NK 細胞については評価していない.③マクロファージ浸潤数の絶対量が多い事や,文献的にも TNBS 腸炎は,抗 CD4 抗体が無効である一方 CD11b 抗体で著明に腸炎が抑制される事などから,マクロファージが

薬剤作用の中心の可能性がある.④文献的には,他の刺激や遅いタイミングで評価し,ナイーブより腸炎群のリンパ球の増殖能が高かった.また,細胞組成の違いが,結果に影響を与えている可能性がある.⑤c-jun,c-fos の評価をすべきであったと回答した.副査の渥美教授から①TNBS 腸炎で C57BL/6 ではなく BALB/c を用いた理由,②TNBS 腸炎で 4 日目以降の治療効果はどうか,③TNBS 腸炎で DTCM-G の容量を変えて検討を行ったか,④RAW264.7 細胞を用いた実験で 1μg/ml の LPS 濃度は濃くて細胞障害を与えるのではないか,⑤DTCM-G が腸内細菌に与える影響はあるか,⑥既存薬剤と比較してどのくらいの効果が期待できるか,⑦癌化を抑制する可能性があるかという質問があり,申請者は, ①BALB/c の方が TNBS 腸炎が導入されやすい.②4 日目に犠牲死させているので検討していない.③行っていない.④1μg/ml LPS のみ添加し培養した場合 MTT アッセイで viability に影響を与えない.⑤腸内細菌に関しては評価していない.⑥dehydroxymethylepoxyquinomycin (DHMEQ) は DSS 腸炎において,5-ASA より腸炎抑制効果がある事が示されているが, DTCM-G と DHMEQ は同等の効果がある.⑥前立腺癌細胞株の増殖を抑制した報告やリンパ腫細胞株のアポトーシス誘導する報告があり,DTCM-G が癌化を抑える可能性は十分にあると回答した.主査の坂本教授より,①他の疾患に対する応用報告はあるか,②薬剤投与後の血中濃度,吸収率などに関する検討はあるか,③臨床上,DTCM-G の位置づけに関して質問があり,申請者は,①マウスの心移植モデルでグラフト生存期間を延長した報告や,マウスの心移植後慢性拒絶による動脈硬化モデルで動脈硬化を抑制した報告がある.他の自己免疫疾患への応用は今後考えられる.②未検討である.③難治性の IBD に対する治療薬としての位置付けを期待すると回答した.

この論文は, マウス炎症性腸疾患モデルにおいて DTCM-G が著明な腸炎抑制効果を有する点において高く評価され, 今後の発展が期待される.

審査員一同は, これらの成果を高く評価し, 大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ, 申請者が博士(医学)の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した.