HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Novel suppressive action of adiponectin on LPS- and HMGB1-induced inflammatory responses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Elfeky, Mohamed Sobhy Hassan
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12399号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63594
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Mohamed_Sobhy_Hassan_Elfeky_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（獣医学）　　氏名：Mohamed Sobhy Hassan ElFeky

審査委員

主査　教授	木　村　和　弘
副査　教授	大　橋　和　彦
副査　准教授	今　内　　覚
副査　講師	岡　松　優　子

学位論文題名

Novel suppressive action of adiponectin on LPS- and HMGB1-induced inflammatory responses

（脂肪細胞分泌因子アディポネクチンの細菌内毒素 LPS および核内タンパク質 HMGB1 に因る炎症に対する新規抑制作用）

非ヒストン核タンパク質 high mobility group box protein 1 (HMGB1)は DNA と結合し、様々な転写因子の活性を間接的に調節する。またマウス敗血症モデルでは lipopolysaccharide (LPS)投与後数日で動物は死に至るが，この時、単球やマクロファージから HMGB1 が能動的に、壊死組織からも HMGB1 が受動的に細胞外へ放出され、炎症応答を増大させることで HMGB1 は致死性炎症メディエーターとして機能する。

一方、アディポネクチンは脂肪細胞から分泌され、抗炎症作用を示す。脂肪蓄積が過剰となるとアディポネクチン生成は低下し、軽度の非感染性炎症が起こり、これにより脂肪組織のみならず骨格筋などにおけるインスリン抵抗性が誘導される。この時、血中 HMGB1 濃度の上昇が報告されているが、その病態生理学的役割は明らかではない。

本学位論文で ElFeky 氏は HMGB1 の関連する炎症応答とアディポネクチンの作用との関係を明らかにすることを目的として、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 細胞を用いて第一章ではアディポネクチンの LPS による HMGB1 の能動的分泌に対する作用について、第二章ではアディポネクチンの HMGB1 による炎症性応答に対する作用について解析した。

第一章で同氏は、細胞を LPS で刺激すると細胞の生存率には影響しないものの、HMGB１の核内から細胞質への移行と細胞外液への分泌を確認した。次に細胞を全長アディポネク

チンで前処理するとLPSによるHMGB1の細胞質への移行と分泌を抑制することを発見した。また抗炎症性サイトカインである Interleukin (IL)-10 も濃度依存性に HMGB1 の細胞外への放出を抑制することを見いだした。この時、全長アディポネクチンの前処理は LPS 受容体である Toll-like receptor (TLR) 4 mRNA の発現を減少させ、抗酸化作用をもつ Heme oxygenase-1 (HO-1) mRNA の発現を誘導したが、IL-10 mRNA の誘導は起こさなかった。一方、IL-10 の前処置は TLR2 および HMGB1 mRNA の発現を抑制し、HO-1 および IL-10 mRNA の発現を上昇させた。全長アディポネクチンの抑制効果は HO-1 阻害剤の存在下で完全に消失したが、IL-10 の抑制効果は部分的にしか解除されなかった。さらに全長アディポネクチンの抑制効果と HO-1 mRNA の誘導は AMP キナーゼ阻害剤によって阻害された。以上の結果より全長アディポネクチンが、IL-10 とは独立して、AMP キナーゼを介して誘導した HO-1 の作用によって LPS による HMGB1 の細胞外への放出を抑制することを明らかにした。

第二章で同氏は組換え HMGB1 を作製し、その濃度に依存して炎症性サイトカイン Tumor necrosis factor α (TNFα) mRNA の発現を増加させることを確認した。HMGB1 の反応は TLR4 アンタゴニストにより強く阻害され、RAW264 細胞において HMGB1 は主に TLR4 を介して炎症性サイトカインの発現を亢進させることが明らかとなった。

全長あるいは球状アディポネクチンの前処理は TLR4mRNA の発現を抑制し、HMGB1 による TLR４に直接結合する Myeloid differentiation primary response 88 (MyD88)アダプタータンパク質を介する TNFαと IL-1β遺伝子発現および MyD88 非依存性に調節される C-X-C chemokine 10 遺伝子発現の亢進を濃度依存性に抑制した。また AMP キナーゼ阻害剤は両アディポネクチンによる炎症性サイトカイン発現の抑制を解除したが、HO-1 阻害剤は効果がなかった。両アディポネクチンの作用が、HMGB1 による MyD88 を介するサイトカインと介さないサイトカインの発現亢進をともに抑制するので、上記の結果は全長および球状アディポネクチンは AMP キナーゼを介して HO-1 非依存性に、おそらくは TLR4 の発現を抑制することで HMGB1 の炎症性シグナルを減じていると考えられた。

以上のように、本研究は、脂肪細胞分泌因子アディポネクチンの細菌内毒素 LPS および核内タンパク質 HMGB1 に因る炎症に対する新規抑制作用を明らかにしたものであり、哺乳動物の病態生理学に貢献が大である。よって，審査委員一同は，上記学位論文提出者 Mohamed Sobhy Hassan ElFeky 氏の学位論文は，北海道大学大学院獣医学研究科規程第６条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。