Title	鼻腔粘膜上皮細胞における新型コロナウイルス細胞侵入因子の発現制御機構に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	中薗，彬
Description	配架番号：2775
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15456号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89999
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NAKAZONO_Akira_review.pdf, 審査の要旨

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　中薗　彬

	主査	教授　今野　哲
審査担当者	副査	教授　南須原　康行
	副査	教授　渡邉　雅彦

学 位 論 文 題 名

鼻腔粘膜上皮細胞における新型コロナウイルス細胞侵入因子の

発現制御機構に関する研究

(Studies on the regulatory mechanism for gene expression of coronavirus-2019 cell entry factors in primary human nasal epithelial cells)

審査にあたり、まず副査の南須原教授から副腎皮質ステロイドによる NF-κB の抑制機序について質問があり、申請者は NF-κB を抑制する inhibitor of NF-κBα（IκBα）の合成増加や、核内移行した NF-κB の DNA への結合阻害により炎症性サイトカインの産生を抑制すると答えた。また COVID-19（Coronavirus disease 2019）が流行しはじめた当初は吸入ステロイドのオルベスコが効果を示すと報告されたが、ネガティブデータも報告され施行されなくなってきたことについてどう考えるかと質問があり、申請者は副腎皮質ステロイドのエビデンスとしては、重症例や中等症例においてサイトカインストームなど過剰な免疫反応が惹起されている状態において、デキサメタゾンの全身投与が死亡率を低下させることが RCT（Randomized controlled trial）で認められていると回答した。また申請者は、ACE2（Angiotensin converting enzyme 2）受容体を介して SARS-CoV-2（Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2）が宿主細胞に侵入するタイミングでは、ACE2 の発現を抑制することで吸入ステロイドが有効な可能性があると回答した。その他、アレルギー性鼻炎で鼻噴霧用ステロイドを投与している患者の臨床データがあるか質問があり、申請者は後方視研究ではあるが、鼻噴霧用ステロイドを投与している患者群において入院率や重症化率、ICU 入床率、死亡率が有意に低下した報告があると回答した。最後にワクチン接種と ACE2 に関する研究の有無について質問があり、申請者が渉猟しえた範囲ではワクチン接種による ACE2 発現の変化を直接調べた報告は現時点ではないと回答した。

引き続いて副査の渡邉教授からは dsRNA が TLR3(Toll like receptor)で認識され ACE2 の発現が上昇する生理的な意義について質問があり、申請者は生理的な意義は不明であるが、自然免疫系の刺激により ACE2 の発現が亢進するということは何らかの意義がある可能性があると回答した。また他のウィルス受容体で dsRNA 刺激により受容体発現が亢進する例があるかについての質問があり、申請者は TLR1-9 で鼻腔上皮を刺激し、RS ウィルスやエンテロウィルス、ライノウィルス、コクサッキーウィルス、アデノウィルスなどの受容体について評価したところライノウィルスの受容体である ICAM-1（Intercellular adhesion molecule-1）のみ発現の亢進を認めたと

回答した。ACE2 の免疫染色の局在について質問があり、申請者はオルガネラの抗体などを用い、ACE2 の細胞内局在について今後検討していくと回答した。

最後に主査の今野教授より、コホート研究などで自然免疫と ACE2 に関連する報告がないにも関わらず、なぜ TLR と ACE2 の関連を調べようと思ったかについて質問があり、申請者は下気道で自然免疫に関連するサイトカインによって ACE2 が誘導されるという報告があったが、上気道では認められないとことや、上気道と下気道では自然免疫に対する反応が異なっていることが、上気道での TLR に対する ACE2 の発現変化を評価する動機づけになったと回答した。また世界中で ACE2 と TMPRSS2（Transmembrane protease serine 2）や COVID-19 の危険因子に関する多くの論文が発表されたが、SARS-CoV-2 の流行がデルタ株からオミクロン株に置き換わるとともに危険因子の報告も変化している状況において、今後 ACE2 と TMPRSS2 以外について何を検討していくかについて質問があり、申請者は ACE2 以外の SARS-CoV-2 結合受容体としてニューロピリン 1（NRP1）や、スパイクプロテインの TMPRSS2 以外の切断酵素である Furin についての評価を今後検討したいと回答した。また TMPRSS2 において mRNA とタンパク質発現の乖離があることについて質問があり、申請者は定常状態において TMPRSS2 のタンパク質発現が飽和している可能性があることや、ACE2 は受容体であるため発現量が重要であるが、TMPRSS2 はプロテアーゼであるため、より重要である酵素活性について今後評価を検討していくと回答した。その他、JSH-23 が NF-κB 経路のどこをブロックするかという質問があり、申請者は、JSH-23 は NF-κB 経路の核内移行をブロックすると回答した。また NF-κB そのものを抑える抗体製剤が実用化されていない理由について質問があり、申請者は抗炎症のカスケードにおいて上流である NF-κB そのものを抑えると、あらゆる抗炎症作用が抑制され免疫機能低下など副作用が問題になることが考えられると回答した。最後に本研究の基礎データをもとにした今後の研究の展望について質問があり、申請者は基礎実験として蛍光タンパクを付加したスパイクプロテインと dsRNA により発現が亢進した ACE2 との結合能評価や、臨床的研究としてインフルエンザなど上気道感染後の鼻腔上皮組織において ACE2 の発現が亢進しているかについての評価、上気道感染後の SARS-CoV-2 感染が増加するかについての前向き研究を検討していると回答した。

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。