

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1134 号	氏 名	古川 聖美
論文審査担当者	主 査 樋口 京一 副 査 花岡 正幸 ・ 瀬戸 達一郎		

(論文審査の結果の要旨)

NLRP3 は、マクロファージや線維芽細胞、上皮細胞など様々な細胞で発現している。インフラマソームを構成し、IL-1 β の成熟を介して炎症に関与する。インフラマソーム非依存的に、NLRP3 が TGF- β 経路を制御し線維化に関与するという報告もある。病態解析診断学教室では、ヒト II 型肺胞上皮細胞 (A549 細胞) とヒト単球由来 THP-1 マクロファージを低酸素環境で共培養することで、IL-1 β や TGF- β 1 を介して、A549 細胞の上皮間葉転換 (EMT) が促進することを報告している。今回、低酸素環境下で THP-1 マクロファージと共培養した A549 細胞の NLRP3 発現が増加する機序を解析した。

ヒト II 型肺胞上皮細胞由来の A549 細胞と、ヒト単球由来の THP-1 細胞を PMA で刺激しマクロファージに分化させた細胞を使用。共培養は 6well plate に A549 細胞を、上清のみが通過できる 1 μ m の穴の開いたインサートに THP-1 マクロファージを播種し、普通酸素 (21%) または低酸素 (1%) で 24 時間培養後、A549 の mRNA やタンパクおよび上清中のサイトカインについて解析した。

その結果、古川は次の結果を得た。

- ① A549 細胞を低酸素環境下で THP-1 マクロファージと 24 時間共培養により、A549 細胞の NLRP3 発現量が有意に増加した。
- ② IL-1 β の分泌量は通常酸素と低酸素で変化は無く、IL-1 β の阻害剤では NLRP3 の発現は抑制されなかった。
- ③ 上清中の TGF- β 1 量は共培養で増加したが、通常酸素と低酸素では変化はなかった。しかし、A549 細胞と THP-1 マクロファージの TGF- β 1 を発現抑制により、A549 細胞の NLRP3 の発現量は抑制された。
- ④ A549 細胞の TGF- β 1 への感受性が高まっている可能性が考えられたため、TGF- β 1 受容体(TGFR1 と TGFR2)の発現量を検討した。低酸素下での THP-1 マクロファージとの共培養で TGFR1 と TGFR2 発現量が上昇していたが、TGFR2 は他の条件でも同程度増加していたことから、NLRP3 発現誘導への関与は否定的であった。一方で、TGFR1 は低酸素下で共培養した A549 細胞でより発現量が増加していた。TGFR1 の阻害剤である SB431542 を添加により、NLRP3 の発現量が抑制された。
- ⑤ TGF- β 1 経路の抑制因子である SMAD7 の発現量が低酸素下の共培養により、減少した。
- ⑥ TGF- β 1 経路の下流シグナルについて、SMAD3 の阻害剤である SIS3 では、NLRP3 の発現増加は抑制されなかった。一方で、p38 MAPK の阻害剤である SB203580 によって、NLRP3 の発現増加が抑制された。

これらの結果から、低酸素環境で THP-1 マクロファージと共培養した A549 細胞では、SMAD7 の減少および TGFR1 の増加により、TGF- β 1 に対する感受性が増加し、TGF- β 1/p38 MAPK 経路を介して NLRP3 の発現が誘導されることが示唆された。

主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。