

論 文 内 容 要 旨

題目 Necroptosis protects against exacerbation of acute pancreatitis

(ネクロプトーシスは急性膵炎の悪化を防ぐ)

著者 Michittra Boonchan, Hideki Arimochi, Kunihiro Otsuka, Tomoko Kobayashi, Hisanori Uehara, Thiranut Jaroonwitchawan, Yuki Sasaki, Shin-ichi Tsukumo, Koji Yasutomo

令和3年6月10日発行 Cell Death & Disease 第12巻

Article number 601 に発表済

内容要旨

ネクロプトーシスは Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) など細胞外からの刺激によって誘導される細胞死であり、これらの刺激によって receptor-interacting protein kinase (RIPK) 1、RIPK3 が活性化された後、mixed lineage kinase-domain like (MLKL) がリン酸化されてオリゴマー化し、細胞膜に移行して孔を形成することにより細胞溶解が引き起こされる。ネクロプトーシスの膵炎発症における役割については相反する結果が報告されており、マウスに RIPK1 阻害剤を投与したり、*Ripk3* もしくは *Mkl1* 遺伝子を欠損させネクロプトーシスを阻害すると、腺房細胞の空胞化が阻害されて急性膵炎の発症に防御的に働くという報告がある。一方、*Ripk3* 欠損マウスでは壊死性膵炎が重症化するという報告もあり、急性膵炎におけるネクロプトーシスの役割は不明瞭であった。そこで今回、セルレインを *Mkl1* 欠損マウスおよび *Ripk3* 欠損マウスに投与し、急性膵炎におけるネクロプトーシスの役割を評価した。コントロールマウスおよび *Mkl1* 欠損マウスは投与したセルレインの濃度に依存して急性膵炎の病態が悪化した。*Mkl1* 欠損マウスはコントロールマウスに比べてセルレインの濃度および投与後の時間に依存して急性膵炎に対して高い感受性を示した。セルレイン誘導急性膵炎の程度は *Mkl1* 欠損マウスの性別によって差が見られなかった。*Mkl1* 欠損マウスはコントロールマウスと比べて組織障害に応じて体重がより減少する傾向を示し、浮腫性および壊死性膵炎は増加する傾向を示した。*Mkl1* 欠損マウスでは膵炎を誘導した膵臓中での E-cadherin の発現が有意に低下しており、膵腺房細胞の脱分化が起きていると考えられた。膵臓中の免疫細胞を調べたところ、膵炎を起こした *Mkl1* 欠損マウスではコントロールマウスに比べて CD19 陽性 B 細胞および CD11b 陽性 Ly6G 陽性好中球の割合が減少していた。膵臓中のサイトカ

様式(8)

インおよびケモカインの発現を調べたところ、*Il1b*、*Csf1*、*Csf2*、*Cxcl10* および *Ccl2* の発現が *Mkl1* 欠損マウスで有意に上昇していた。*Mkl1* 遺伝子の欠損は抗アポトーシス遺伝子である *Bclxl* と *Cflar* 遺伝子の発現低下を引き起し、TUNEL 陽性アポトーシス細胞の数の増加を引き起した。同様に *Ripk3* 欠損マウスにおいてもセルレインの投与によってコントロールマウスに比べてより激しい膵臓の浮腫と壊死性膵炎が観察され、マクロファージおよび好中球の浸潤を伴う炎症が見られた。これらの結果は RIPK3 と MLKL を介するネクロプトーシスは急性膵炎の悪化を防ぐ働きがあることを示しており、急性膵炎の治療法としてネクロプトーシス阻害剤を使用することに対して注意が必要であることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1506 号	氏名	Michittra Boonchan
審査委員	主査 常山幸一 副査 石丸直澄 副査 酒井 徹		

題目 Necroptosis protects against exacerbation of acute pancreatitis
(ネクロプトーシスは急性膵炎の悪化を防ぐ)

著者 Michittra Boonchan, Hideki Arimochi, Kunihiro Otsuka, Tomoko Kobayashi, Hisanori Uehara, Thiranut Jaroonwichawan, Yuki Sasaki, Shin-ichi Tsukumo, Koji Yasutomo

令和3年6月10日発行 Cell Death & Disease 第12巻
 Article number 601 に発表済
 (主任教授 安友康二)

要旨 細胞が死に至る機序の一つとして知られているネクロプトーシスは、tumor necrosis factor-alpha などの刺激によって誘導され、各種の炎症病態の進展に関与していることが知られている。ネクロプトーシスは、細胞外からの刺激により receptor-interacting protein kinase (RIPK) 3 が mixed lineage kinase-domain like (MLKL) をリン酸化することで、MLKL が細胞膜に移行して孔を形成することで誘導されることが明らかになっている。急性膵炎 (acute pancreatitis: AP) は膵臓の急激な機能低下をもたらす、組織学的には腺房細胞の細胞死を伴うことが知られているが、AP の進展におけるネクロプトーシスの役割は明らかにはなっていない。そこで申請者らは、セルレインを *Mkl1* 欠損マウスおよび *Ripk3* 欠損マウスに投与し、AP とネクロプトーシスの関連性を評価した。

得られた結果は以下の通りである。

- 1) *Mkl1* 欠損マウスはコントロールマウスに比べてセルレインの濃度および投与後の時間に依存して AP に対して高い感受性を



示し、浮腫性および壊死性病変が増加する傾向を示した。

- 2) APを誘導した *Mkl1* 欠損マウスでは、脾臓中での *Cdh1* の発現が有意に低下していた。また、脾臓中の CD19 陽性 B 細胞および CD11b 陽性 Ly6G 陽性好中球の割合が減少していた。
- 3) APを誘導した *Mkl1* 欠損マウスでは脾臓中の *Il1b*、*Csf1*、*Csf2*、*Cxcl10* および *Ccl2* の発現が有意に上昇していた。一方で抗アポトーシス遺伝子である *Bclxl* と *Cflar* 遺伝子の発現は低下し、脾臓でのアポトーシス細胞の数が増加していた。
- 4) *Ripk3* 欠損マウスでは、セルレインの投与によってコントロールマウスに比べて激しい脾臓の浮腫と壊死性脾炎が観察され、マクロファージおよび好中球の浸潤が顕著であった。

以上より、RIPK3 と MLKL を介するネクロプトーシスは AP の悪化を防ぐ働きがある可能性が示唆された。

本研究は、AP の発症におけるネクロプトーシスの役割を明らかにし、今後の AP 治療薬の開発に多大な影響を与えられ、学位授与に値すると判定した。

最 終 試 験 報 告 書

報告番号	甲医第 1506 号	氏 名	Michittra Boonchan
実施年月日	令和3年 8月 3日		
試験方法 (該当を○で囲む)	<input checked="" type="checkbox"/> 口 頭 筆 答		
試験の結果の要旨			
<p>申請論文の内容について、公開で発表させた後、試問を行った。</p> <p>発表内容、発表態度はともに良好で、質問にも的確に答えた。</p> <p>よって、最終試験に合格と判定した。</p>			
決 定 (該当を○で囲む)			<input checked="" type="radio"/> 合 否
主査	氏 名	常山 幸一	
副査	氏 名	酒井 徹	
副査	氏 名	石丸 直隆	