

(様式5)

指導教員 承認印	主	副	副
	㊟	㊟	㊟

学位（博士）論文要旨

論文提出者	生物システム応用科学府 共同先進健康科学専攻（博士課程） 平成 25 年度入学 氏名 佐藤 宏昭 ㊟				
主指導教員 氏名	松田 浩珍	副指導教員 氏名	竹山 春子	副指導教員 氏名	
論文題目	Nuclear factor-kappa B を標的としたウマのエンドトキセミア治療に関する研究 (A study on treatment targeting nuclear factor-kappa B for equine endotoxemia)				
論文要旨（2,000字程度） <p>ウマのエンドトキセミアは、確立された有効な治療法が少なく、未だに致死率の高い難治性疾患である。競馬施行を通じて人間社会に多大な貢献をしているウマの福祉と健康の向上に努力することは、獣医師にとって責務である。QOLの低下に加え経済的損失規模の大きさからも、ウマのエンドトキセミアの効果的な治療法の確立は、獣医学的な枠組みを超えた早急に解決すべき重要課題の一つである。</p> <p>ウマにおけるエンドトキセミアは、重度の疝痛などの消化管機能障害の後に惹起されることが多く、発熱、下痢、低血圧、指灌流低下、凝固系機能異常などの複雑な臨床兆候パターンを呈す。炎症がさらに進行すると、心血管系の機能低下、動脈血低酸素血症、組織内灌流低下を引き起こし、最悪の場合、蹄葉炎や多臓器不全に陥る致命的な疾患である。しかし、エンドトキセミアの治療に際し、多くの研究者によって様々な試みがなされてきているが、有効な治療法として証明されたものはいまだ極僅かであり、効果的な根治療法の確立が急務とされている。</p> <p>エンドトキセミアの主要トリガーは、腸内細菌叢から放出される lipopolysaccharide (LPS) である。LPS が侵入すると生体は、自然免疫反応を発動させる。単球やマクロファージは、膜表面上の特異的受容体 Toll-like receptor 4 を介して LPS を認識して転写因子 Nuclear factor-kappa B (NF-κB) を活性化させ、tumor necrosis factor (TNF) -α、interleukin (IL) -1β、IL-6、セロトニン、エンドセリン-1 等の炎症性サイトカインや血管作動性メディエーターの産生を誘導する。LPS 侵襲が過大または継続的であった場合、炎症反応の恒常性が破綻し、炎症性サイトカインは攻撃因子として作用してしまい、Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) へと移行する。SIRS に至る過程では、特に TNF-α が主要な役割を担っている。興味深いことに TNF-α のシグナル伝達においても LPS 同様に NF-κB が活性化される。これらの事実から、LPS 結合による病態発現開始から増悪化に至る一連の炎症カスケードにおいて、NF-κB が共通の転写因子として作用し、NF-κB の過剰な活</p>					

性化がエンドトキセミアの病態形成の主要な役割を担っていることが示唆される。すなわち、ウマのエンドトキセミアの治療戦略においてNF- κ Bが重要な治療標的となり得ることが予期される。

本研究では、このNF- κ B過剰活性に着目し、NF- κ Bを標的とするウマのエンドトキセミア治療の開発を目指した。NF- κ B阻害剤として、IMD-0354およびボルテゾミブの二つの分子標的薬の効果解析を行った。IMD-0354はInhibitor of NF- κ B kinase (I κ B kinase, IKK) β 特異的インヒビターであり、齧歯類やイヌにおいて乳癌やアトピー性皮膚炎に対する治療効果が証明されている。ボルテゾミブは多発性骨髄腫の治療薬として開発されたプロテアソームインヒビターであり、NF- κ B阻害剤としては唯一市販製剤が存在する。I章では、ウマ単球を用いて、LPS誘導性TNF- α 産生に対するNF- κ B阻害剤の抑制効果を*in vitro*で確認した。特にボルテゾミブの効果は顕著であり、その作用はリン酸化I κ Bのプロテアソーム分解を阻害しNF- κ Bの核内移行を抑制することによって機能することを明らかにした。II章では、生体におけるLPS誘導性炎症反応に対してNF- κ Bを標的とすることの妥当性・有効性を検証した。まず、ウマの指灌流へLPSを局所投与することにより蹄壁表面温度の変化を指標とする局所炎症モデルを作成した。このモデルは、エンドトキセミア続発性蹄葉炎の初期モデルになり得ることが示唆された。このモデルを用いてIMD-0354の*in vivo*効果を局所的に解析した結果、IMD-0354がLPS誘導性指灌流低下を抑制できることが明らかとなった。この結果により、エンドトキセミアや蹄葉炎などのウマのLPS関連性炎症疾患に対するNF- κ B標的治療の有効性が確認され、全身投与による*in vivo*解析にステップアップする根拠が得られた。そこで、III章ではウマのエンドトキセミアモデルを用いたNF- κ B阻害剤全身投与の効果解析を行った。将来的な臨床現場での応用を想定し、市販製剤が存在するボルテゾミブを治験薬として選択し、エンドトキセミアモデルにおける臨床パラメータに対する効果を評価した。その結果、ボルテゾミブの全身投与がLPS曝露により誘導された疼痛反応および蹄表面温度低下を改善することを立証した。

これらの成果は、ウマのエンドトキセミアにおいてNF- κ Bを標的とした分子標的治療法という従来と異なる全く新しい治療戦略の有効性を提唱するものである。