

氏名・(本籍)	佐藤 雄大 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 1033 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	GLP-1 receptor signaling differentially modifies the outcomes of sterile vs. viral pulmonary inflammation in male mice (雄マウスにおいて GLP-1 受容体シグナルは無菌性肺炎とウイルス性肺炎の アウトカムを異なる形で修飾する)
論文審査委員	(主査) 中山 勝敏 教授 (副査) 海老原 敬 教授 河谷 正仁 教授

学位論文内容要旨

論文題目

GLP-1 receptor signaling differentially modifies the outcomes of sterile vs. viral pulmonary inflammation in male mice

(論文題目の和訳)

雄マウスにおいて GLP-1 受容体シグナルは無菌性肺炎とウイルス性肺炎のアウトカムを異なる形で修飾する

申請者氏名 佐藤 雄大

研究目的

食事に伴い腸管から分泌される消化管ホルモンである Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は、膵β細胞に作用しインスリン分泌促進作用があることから、その血中濃度を高める薬剤は糖尿病の治療に広く使われている。しかしながら GLP-1 の受容体は、膵β細胞以外にもさまざまな臓器に発現しており、血糖降下作用以外にもさまざまな働きがあることが報告されている。その中で、肺は GLP-1 受容体がげっ歯類でもヒトでも多く発現していることが報告されている臓器である。肺は生体内と外界を隔てる境界であり、ガス交換をするだけでなく、生体に有害なウイルスや細菌などの病原体を排除する境界としても機能する。肺の生体防御システムは一見すると肺のみにて完結しているように見える。しかし、肺の生体防御を調節するのは肺自体だけではなく、肺以外のさまざまな因子もあることが示唆されている。たとえば、腸内環境が肺の免疫に大きな影響を与えることが報告されているが、これらの腸と肺の関係は、Gut-Lung axis として近年注目されている。一方で GLP-1 を分泌する腸管も栄養素を取り込むだけではなく、生体に有害な病原体を排除する境界として機能しており、この点で肺と腸管は共通している。本研究の目的は肺における GLP-1 受容体シグナルの役割を、腸管と肺に共通する生体防御という観点で検討することである。

研究方法

肺の生体防御における GLP-1 受容体シグナルの役割を検討するため、非感染性肺障害モデルマウスと感染性肺障害モデルマウスを作成し検討を行った。非感染性の肺障害モデルマウスとして 9~10 週齢のオスの C57BL/6 マウスにブレオマイシン 2.5mg/kg を経気道的に投与し、ブレオマイシン誘導性肺障害モデルマウスを作成した。感染性の肺障害モデルマウスとして H1N1 インフルエンザウイルスである PR8 を 9~10 週齢のオスの C57BL/6 マウスに経気道感染させインフルエンザウイルス感染モデルマウスを作成した。これらのモデルに GLP-1 受容体作動薬である Liraglutide を 200 μg/kg を皮下投与し、生理食塩水投与群と生存率、サイトカインの発現量、組織などを比較検討した。また GLP-1 受容体欠損マウスを用いて肺障害モ

デルを作成し、野生型マウスと比較検討を行った。すべての動物飼育と実験は、秋田大学動物実験倫理委員会の承認を受け、そのプロトコールとガイドラインに基づいて行った。

研究成績

非感染性肺障害モデルである、ブレオマイシン肺障害モデルにおいて、Liraglutide を投与すると肺の炎症が増強し、生存率の悪化が認められた。逆に GLP-1 受容体シグナルがないと肺の炎症は減弱し、その後の線維化も軽度であった。また Liraglutide による肺の炎症の悪化は薬剤性交感神経ブロックによりキャンセルされた。

一方で感染性肺障害モデルである、インフルエンザウイルス感染モデルマウスにおいては Liraglutide 投与により生存率の改善が認められた。感染後の肺におけるウイルス量を検討したところ Liraglutide 投与群において感染後 day1~day3 においてそれぞれ有意にインフルエンザウイルス量が減少していた。Liraglutide 投与において炎症性サイトカインの発現量が有意に減弱していたが、ウイルス量当たりのサイトカインの発現量は、感染後 1 日目において Liraglutide 投与群で有意に増加していた。

インフルエンザウイルス感染後 1 日目の肺の遺伝子発現をマイクロアレイにて網羅的に解析したところ、Liraglutide 投与群では Interferon inducible GTPase 群が有意に増加していた。また、Liraglutide による Interferon inducible GTPase 群の増加は Interferon 非依存性経路により生じることが示唆された。

結論

本研究では GLP-1 受容体シグナルは、病原体を排除するために自然免疫を増強したり、Interferon inducible GTPase 群を増加させたりすることが示唆された。このことはブレオマイシンモデルのような炎症の原因を排除できないような場合は、GLP-1 受容体シグナルが単に炎症を増強させ生体を致命的にすることさえあるが、炎症の原因である病原体を排除することにより生存率の改善につながる可能性があることが示唆された。また、これらの研究から腸管は GLP-1 を介して肺の生体防御を調節している可能性が示唆された。

学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主 査： 中山 勝敏

申請者： 佐藤 雄大

論文題名：英文 GLP-1 receptor signaling differentially modifies the outcomes of sterile vs. viral pulmonary inflammation in male mice

(和訳) 雄マウスにおいて GLP-1 受容体シグナルは無菌性肺炎とウイルス性肺炎のアウトカムを異なる形で修飾する

要旨

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)は、腸管から分泌されインスリン分泌促進作用を示す消化管ホルモンであり 2 型糖尿病の治療薬として使用されるが、GLP-1 受容体は膵外臓器にも発現しており、多臓器での血糖降下作用以外の働きが想定される。著者は、肺における GLP-1 経路の生体防御としての役割を検討した。この目的で、GLP-1R アゴニストで治療された野生型マウスおよび Glp1 受容体ノックアウトマウスを用いて、(1) 経気道的プレオマイシン投与による「非感染性肺障害モデルマウス」と(2)経気道的インフルエンザ感染による「感染性肺障害モデルマウス」について、GLP-1 の働きを検討した。

プレオマイシン誘発性肺傷害では、GLP-1 欠損マウスで炎症が軽減し、GLP-1 受容体アゴニスト (Liraglutide)の投与により増強した。また、この肺傷害増強作用は交感神経ブロックによりキャンセルされた。一方、インフルエンザウイルス感染性肺傷害では Liraglutide 投与によりウイルス量の低下と肺での炎症の軽減が認められた。抗ウイルス作用は Interferon regulatory factor を介した Interferon inducible GTPase 群等の誘導が関与していることが考えられた。しかし、ウイルス量当たりのサイトカインの発現量は増加しており、GLP-1 経路の炎症増強作用と抗ウイルス作用の総和として、ウイルス感染性肺傷害を軽減したことが考えられた。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1) 斬新さ

GLP-1 系の肺での働きに注目し、これまで抗慢性炎症作用が指摘されていた GLP-1 に肺における炎症増強作用があることを初めて示した。一方で、感染性肺傷害については GLP-1 賦活が直接 IFN 誘導遺伝子群の発現増加することで抗ウイルス作用を発揮することも初めて示された。

2) 重要性

急性肺傷害はしばしば致命的な病態であり、そのメカニズムや治療法の開発は重要な医療課題である。プレオマイシン肺傷害モデルにおいて、交感神経刺激ブロックにより肺傷害をほぼキャンセルできたことはある種の急性肺傷害において、交感神経系の関与を示唆する大きな発見と云える。また、感染性肺傷害モデルでは、GLP-1 系賦活による肺傷害軽減が、抗ウイルスと炎症誘導のバランスの上に成り立っていることを示している。近年注目される重症型新型コロナウイルス感染では、逆に IFN 系の減弱と IL6 など炎症性サイトカインの増強が示されており、ウイルス感染重症化の病態理解や治療開発の上で極めて重要な知見と云える。

3) 研究方法の正確性

GLP-1 受容体の局在についてはやや甘い部分もあるが、良く工夫して示している。ノックアウトとアゴニスト投与により裏表の検証を加えており、また各実験のテーマを組織、生化学、サバイバル曲線等を用いて多角的に検証しておりソリッドな印象を持つ。まとめの Figure も分かりやすい。

4) 表現の明瞭さ

論文における、研究目的、方法、実験結果、考察は、簡潔かつ明瞭に記載されている。審査会での発表ならびに質疑応答も充実していた。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。