

## 論文審査の要旨

報告番号	甲 第 2877 号	氏 名	嘉手納 未季
論文審査担当者	主査 教授 高見 正道	副査 教授 美島 健二	副査 准教授 宮本 洋一
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学位申請論文「Microarray and gene co-expression analysis reveals that melatonin attenuates immune responses and modulation actin rearrangement in macrophages」について、上記の主査 1 名、副査 2 名が個別に審査を行った。</p> <p>メラトニンは脳松果体より分泌され睡眠誘導作用や概日リズム調節などの生理作用を有するホルモンである。本研究は、免疫系の中でも特に感染防御の初期応答に重要な働きを示すマクロファージを用いて自然免疫系におけるメラトニンの役割と活性化制御機構について解析した。メラトニンは特定の炎症性サイトカインを抑制し、それは特定の転写因子やシグナル伝達経路に依存して働くことを明らかにした。またアクチン重合、食食能および獲得免疫系細胞(Th17 細胞)の分化誘導を阻害した。以上の結果より、メラトニンは生体においてマクロファージを含めた免疫系機能の活性化を強く抑制することが明らかになった。本研究結果よりメラトニンの服用は宿主の過剰な免疫抑制を引き起こす可能性があり、易感染性宿主で意図しない免疫低下や感染憎悪、歯周病の悪化などのリスク因子について考慮する必要があることが示唆された。</p> <p>本論文の審査において、副査の美島健二委員および宮本洋一委員から多くの質問があり、その一部とそれらに対する回答を以下に示す。</p> <p><b>副査 美島健二委員の質問とそれらに対する回答：</b></p> <p>1. 遺伝子発現のクラスタリングをどのような基準で行っているか。 LPS に誘導される遺伝子群の発現変化によりクラスタリングを行った。遺伝子発現が LPS 刺激 3 時間から誘導されたものを Cluster1 および 2 に、LPS 刺激 1 時間で誘導されたものを Cluster3, 4 に分類し、メラトニンによる抑制があまりみられないものは Cluster1 および 3、強く抑制されているものは Cluster2 および 4 とクラスタリングした。</p> <p>2. メラトニンにより IL-6 や IFN-<math>\beta</math> 遺伝子の発現が抑制されるメカニズムについて述べよ。 マクロファージの細胞骨格の一つである多量体アクチンがメラトニンにより抑制されていることを明らかにした。メラトニンがアクチンの多量体形成を阻害し、食食作用を抑制することで、TRIF 依存的経路が抑制されたことから IL-6, IFN-<math>\beta</math> の遺伝子発現、タンパク質産生が抑制されたと考える。</p> <p>3. メラトニンの標的分子はどのようなものがあるか。 メラトニンの標的分子として、細胞膜に MT1 (Mtnr1A), MT2 (Mtnr1B) があり、核内では ROR-<math>\alpha</math> が受容体として知られている。</p>			

(主査が記載)

**副査 宮本洋一委員の質問とそれらに対する回答：**

1. CD3<sup>+</sup>リンパ球とマクロファージの共存培養における Th17 細胞の誘導に対するメラトニンの抑制効果を示した実験で、メラトニンが CD3<sup>+</sup>リンパ球に作用した可能性をどのように否定したか説明せよ。

Th17 細胞は IL-6 と TGF- $\beta$  のシグナルにより Th17 細胞に分化するため、マクロファージ非存在下で CD3 陽性リンパ球に IL-6 と TGF- $\beta$  で Th17 細胞を誘導したところメラトニンによる抑制はみられなかったため、CD3 陽性リンパ球に作用した可能性を否定できたと考えている。

2. 障がい者とメラトニンの関係について科学的根拠に基づいて説明せよ。

自閉症は睡眠障害が深刻な問題であり、メラトニンやラメルテオン（メラトニン受容体作動薬）を服用している。自閉症の血漿メラトニン量をコントロール群と比較したところ、51%でメラトニンが欠乏しているとの報告がある。多発性硬化症は再発と寛解を繰り返す神経細胞のミエリンが障害される自己免疫疾患で、視神経が障害されると視力低下や斜視、大脳が傷害されると手足の感覚障害や運動障害がみられる。夏に多発性硬化症が再発する傾向があり、その原因がメラトニンの減少であるとし、多発性硬化症のモデルマウスにおいてメラトニン投与を行い、自己免疫性脳炎を抑制して Th17 細胞数を減少させたとの報告もある。

3. メラトニン受容体について細胞での分布、知られている細胞内シグナル伝達機構および

RAW264.7 細胞での受容体の発現について説明せよ。

メラトニンの受容体として、細胞膜に MT1 (Mtnr1A), MT2 (Mtnr1B) があり、核内では ROR- $\alpha$  が知られている。マクロファージ (RAW264.7 細胞) においてはメラトニン受容体についての文献が少なく、詳細は不明であるが、受容体はアバンダントであることがいくつかの文献から確認されており、免疫系細胞も含めて、脳、網膜、肝臓、腎臓など、全身で発現していることが知られている。メラトニンの細胞内シグナル伝達機構として、MT1, MT2 はともに G タンパク質共役受容体であり、G タンパク質共役受容体を経由し、アデニル酸シクラーゼを活性化し cyclic AMP を減少させ、cyclic AMP 依存的なプロテインキナーゼの活性化を低下させる経路が知られている。また、受容体非依存的経路の存在も示唆されている。

両副査は、上記を含めた質問に対する回答が、いずれも満足のいくものであることを確認した。

**主査 高見正道委員の質問とそれらに対する回答：**

1. メラトニン受容体欠損動物や突然変異をもつヒトでは免疫にどのような異常が生じるのか。

メラトニン受容体欠損動物ではうつ病様行動の増加やサーカディアン神経的異常が報告されている。メラトニン受容体欠損動物についての免疫系への影響として、メラトニン受容体 MT1 と MT2 をダブルノックアウトしたマウスに敗血症を誘導し脾臓細胞を用いて、IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  の増加を認め、炎症状態の増加を報告している、一方、敗血症を誘導しても対照群と生存率に変化はみられなかったとの報告がある。メラトニンの受容体は生体のあらゆる組織に分布しているが、免疫系にどのような異常が生じるのか詳細は明らかになっていない。脳ホルモンであるメラトニンが生体において重要な役割をしていることは明らかであるが、不明なことが多く、今後メラトニンについてさらなる研究が進むのではないかと推察される。

主査の高見正道委員は、両副査の質問に対する回答の妥当性を確認するとともに、本論文の主張をさらに確認するために上記の質問をしたところ、明確かつ適切な回答が得られた。

以上の審査結果から、本論文を博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。