

論文内容要旨

論文題目

Reactive oxygen species exacerbate autoimmune hemolytic anemia in New Zealand Black mice

所属部門： 分子疫学 部門
所属講座： 生化学・分子生物学 講座
氏名： 金野 祐

【内容要旨】(1,200字以内)

酸化ストレスは老化や癌、生活習慣病など様々な疾患に深く関わっている。酸化ストレスの原因となる活性酸素種はミトコンドリアをはじめ生体の様々な場所で恒常的に産生されるものの、通常は抗酸化酵素や抗酸化物質によって適切に消去されている。しかし何らかの原因により生体内の酸化反応と抗酸化反応のバランスが崩れると活性酸素種による酸化障害が進行し、細胞や組織の機能や個体の恒常性に影響を及ぼすこととなる。

自己免疫性溶血性貧血(Autoimmune hemolytic anemia ; AIHA)は赤血球に対する自己抗体が産生されることで生じる溶血性貧血であるが、発症の原因は未だに解明されていない。本研究室ではこれまで、抗酸化酵素のスーパーオキシドジスムターゼ 1 (SOD1)のノックアウトマウスが AIHA に類似した表現型を示すことを報告した。SOD1 は酸素分子の一電子還元によって生じる活性酸素種のスーパーオキシドを過酸化水素と酸素へ不均化する酸化還元酵素で、生物間の SOD 活性と最大寿命の間には強い相関があると言われている。SOD1 ノックアウトマウスが示した AIHA 様の表現型は、酸化ストレスが AIHA 発症の原因の一つとなっている可能性を示唆している。そこで本研究では、AIHA を自然発症する病態モデルの New Zealand Black (NZB)マウスを用いて、全身性の SOD1 ノックアウトマウス(KO)、GATA1 プロモーターにより赤血球特異的にヒト SOD1 を発現するトランスジェニックマウス(Tg)、両マウスの交配により得られるノックアウト；トランスジェニックマウス(KO;Tg)を作出し、野生型を含めた 4 系統のマウスの赤血球酸化ストレスと AIHA の発症、増悪との関係について解析した。

各マウスの尾静脈より血液を採取し、赤血球を単離した後、蛍光プローブを用いて赤血球内活性酸素種と赤血球に対する自己抗体を測定し、経時変化を解析した。さらに赤血球の酸化障害の評価として、酸化ヘモグロビンのメトヘモグロビン、赤血球膜及び血漿中の脂質過酸化物質、抗酸化酵素ペルオキシレドキシンの過酸化体、酸化ストレスによる酸化分解を受けやすいグルタチオンペルオキシダーゼ(GPX)のタンパク含量、赤血球内の主要な抗酸化酵素である SOD、カタラーゼ、GPX の酵素活性を測定した。

解析の結果、KO マウスは赤血球の酸化傷害が亢進しており、AIHA を発症する野生型よりも早期に赤血球自己抗体が産生され、より深刻な貧血を伴って死亡していくのに対し、Tg、KO;Tg マウスでは有意に生存率が改善し、赤血球内活性酸素種の蓄積を抑えると同時に AIHA の発症が抑制された。

以上より、免疫抑制剤や輸血、脾臓摘出といった従来の治療法に加え、抗酸化物質の投与等で赤血球酸化ストレスを軽減させることで AIHA の発症や増悪を緩和できる可能性が示唆された。

平成 27年 1 月 20日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：金野 祐

論文題目：Reactive oxygen species exacerbate autoimmune hemolytic anemia in New Zealand Black mice

(NZB マウスが発症する AIHA に対する活性酸素種の増悪作用)

審査委員：主審査委員

藤井 順逸



副審査委員

中島 修



副審査委員

石澤 賢一



審査終了日：平成 27年 1 月 15日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

自己免疫性溶血性貧血 (Autoimmune hemolytic anemia ; AIHA) は、赤血球を認識する自己抗体が生成することで溶血性貧血に至る疾患であるが、発症原因は解明されていない。酸化ストレスは、活性酸素種の産生が増す、もしくは抗酸化物質が減少した状態であり、老化や癌、生活習慣病などの様々な疾患に関わると考えられている。抗酸化酵素の Superoxide dismutase 1 (SOD1) を欠く C57BL/6 マウスでは、免疫系に異常を認めないにもかかわらず、AIHA に類似の症状を示すことから、酸化ストレスが AIHA の発症にも関わる可能性がある。

本研究では、i) AIHA を自然発症する病態モデルマウスである New Zealand Black (NZB) 系統マウス (WT) を遺伝的背景として、ii) 全身性に SOD1 を欠くコンジェニック NZB 系統 (KO)、iii) 赤血球特異的にヒト SOD1 を発現するコンジェニック NZB 系統 (Tg)、iv) 全身性に SOD1 を欠き赤血球のみにヒト SOD1 を発現するコンジェニック NZB 系統 (KO; Tg)、の 4 群のマウスを対象に、AIHA の病態と酸化ストレスの視点から観察と赤血球を中心とする検討を行った。

その結果、KO マウスは WT マウスよりも若齢で赤血球結合自己抗体の増加や貧血といった AIHA の症状を示し、ヒト SOD1 を過剰発現した Tg ならびに KO; Tg マウスでは観察期間における発症は抑えられていた。AIHA の発症時期と、細胞内活性酸素種の量・メトヘモグロビンの量・脂質過酸化物の量から推測される赤血球中の酸化ストレスの程度とは相関しており、酸化ストレスが AIHA の発症に関わる可能性を示唆する結果であった

本研究は、NZB マウスにおける AIHA の発症には、スーパーオキシドなどの活性酸素種が増加することが原因となって生じる酸化ストレスが関わる可能性を示しており、AIHA の病態の解明に貢献すると考えられることから、博士 (医科学) の学位論文にふさわしいと判断した。

(1, 200字以内)