

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

|                   |                                                                                                                                                                                              |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 題目(和文)            |                                                                                                                                                                                              |
| Title(English)    | Nuclear transglutaminase 2-mediated human hepatic injury by interaction with pathogenic fungi                                                                                                |
| 著者(和文)            | SHRESTHARONAK                                                                                                                                                                                |
| Author(English)   | Ronak Shrestha                                                                                                                                                                               |
| 出典(和文)            | 学位:博士(学術),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第10926号,<br>授与年月日:2018年6月30日,<br>学位の種別:課程博士,<br>審査員:梶原 将,一瀬 宏,長田 俊哉,山本 直之,小畠 英理,小嶋 聡一                                                                  |
| Citation(English) | Degree:Doctor (Academic),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第10926号,<br>Conferred date:2018/6/30,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,,, |
| 学位種別(和文)          | 博士論文                                                                                                                                                                                         |
| Category(English) | Doctoral Thesis                                                                                                                                                                              |
| 種別(和文)            | 審査の要旨                                                                                                                                                                                        |
| Type(English)     | Exam Summary                                                                                                                                                                                 |

## 論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

| 報告番号  | 乙 第 号   | 学位申請者 | Ronak Shrestha |       |
|-------|---------|-------|----------------|-------|
| 論文審査員 | 氏 名     | 職 名   | 氏 名            | 職 名   |
|       | 主査 梶原 将 | 教授    | 小嶋英理           | 教授    |
|       | 一瀬 宏    | 教授    | 小嶋聡一           | 学外審査員 |
|       | 山本直之    | 教授    |                |       |
|       | 長田俊哉    | 准教授   |                |       |

本論文は「Nuclear transglutaminase 2-mediated human hepatic injury by interaction with pathogenic fungi」と題し、英文で書かれ、5つのChapterから構成されている。

Chapter 1「Introduction」では、幾つかの病原真菌はヒトに感染して深在性真菌症を引き起こし、多くの症例では重篤な疾患となり、予後不良で致死率も高く、特に *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* 種による深在性真菌症は世界的な問題の1つとなっていると述べている。そして、日和見感染真菌 *Candida albicans* や *Candida glabrata* がヒトの口腔内や腸管内の常在菌であり、ヒトのアルコール過剰摂取によるこれら真菌を含む微生物の肝臓への移動や真菌血症に伴う真菌の肝臓への感染が報告されていると述べている。一方、ヒトの肝臓組織の中で、肝(実質)細胞は様々な役割を担う重要な細胞であり、脂肪性肝炎などでは transglutaminase 2 (TG2) が鍵酵素として関与し、TG2の活性化が肝細胞にアポトーシスを引き起こし、最終的には肝硬変や肝臓がんになることが報告されていると述べている。そこで本研究では、これまで殆ど知られていない病原真菌のヒト肝細胞に与える影響を TG2 に着目して解析するとともに、TG2 活性に影響を与える真菌の因子を特定して、その作用を詳細に解析することとしたと述べている。

Chapter 2「Fungi-host interaction and TG activity in the host cells」では、病原真菌等がヒト肝細胞に与える影響について、真菌類とヒト肝細胞を共培養し、TG2 活性を指標として解析したところ、*C. albicans* や *C. glabrata* ではヒト肝細胞の核内 TG2 活性が上昇する一方で、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* や分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* などではその現象が生じないことを発見したと述べている。またこの現象は、TG2 遺伝子の発現上昇と TG2 の核内蓄積によること、肝細胞だけでなく腎臓などの他の細胞でも生じること、ヒト肝細胞のアポトーシスが誘導されることなどを見出し、病原真菌のみがヒト肝細胞等に作用し、その核内 TG2 活性を上昇させることによりアポトーシスを誘導できることを示唆する結果を得たと報告している。

Chapter 3「Screening and identification of a fungal factor(s) responsible for the induction of TG activity of hepatic cells following co-incubation with fungus」では、*C. albicans* や *C. glabrata* の既存の多数の病原因子の中から、ヒト肝細胞の核内 TG2 活性を上昇させる因子を特定するために、死菌、培養上清、分泌酵素阻害剤、複数の病原因子欠損株、複数の形態分化欠損株等を用いて肝細胞との共培養を行い、TG2活性の上昇を解析したところ、試みた全ての共培養では肝細胞の TG2活性の上昇は見られなかったと報告している。一方で、真菌と肝細胞の直接接触を妨げる膜等を利用した共培養において肝細胞の TG2活性の上昇が観察され、上述した真菌の培養上清では TG2活性の上昇は見られなかったことから、当該因子は真菌から分泌される低分子で不安定な物質であることが示唆されたと述べている。そして、これらの結果から当該因子は活性酸素種(ROS)ではないかと考え、ROS 阻害剤を用いて真菌と肝細胞との共培養を行ったところ、TG2活性の上昇は見られなかったことから、ROS が因子の最有力候補であると推定したと述べている。

Chapter 4「Effect of fungus-derived ROS to human hepatocytes and mouse primary hepatocytes」では、ヒト肝細胞との共培養時の *C. albicans* と *C. glabrata* の ROS 産生量を測定するとともに、生産された ROS がどのような種であるのかを ESR で分析した結果、特に *C. albicans* で ROS 産生量の増加が見られ、その主要な ROS はヒドロキシラジカル( $\cdot\text{OH}$ )であったと述べている。さらに、*C. glabrata* の ROS 分泌産生欠損株を用いた共培養では TG2 活性上昇は見られないことが分かったと報告している。そして、TG2 阻害剤を用いて *C. albicans* と *C. glabrata* による肝細胞のアポトーシス誘導が TG2 活性を介したものであるかを確認するとともに、TG2 ノックアウトマウスと TG2 + マウスからの初代培養肝細胞を用いた共培養を行い、TG2 + マウスの細胞のみ TG2 活性の上昇とアポトーシス誘導が観察されたことから、病原真菌が産生する ROS により、TG2 活性上昇を介した肝細胞のアポトーシス誘導が起こることが強く示唆されたと述べている。

Chapter 5「Conclusion」では、本研究で、病原真菌 *C. albicans* や *C. glabrata* のヒト肝細胞への作用を詳細に解析することにより、真菌 ROS により TG2 活性を介してヒト肝細胞のアポトーシスが誘導されることを見出し、病原真菌とヒト細胞との相互作用に新たな展開をもたらし、深在性真菌症の治療方法の開発や他の肝臓病との関係解明のための知見を提供することができたと総括している。

以上を要するに、本論文は病原真菌がヒト肝細胞に与える影響について、新たな作用メカニズムに関する知見を得たものであり、学術上貢献するところが大きい。よって本論文は博士(学術)の学位論文として十分な価値があると認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。