

氏名 難波 貴弘  
授与した学位 博士  
専攻分野の名称 医学  
学位授与番号 博 甲第 6580 号  
学位授与の日付 2022 年 3 月 25 日  
学位授与の要件 医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻  
(学位規則第 4 条第 1 項該当)

学位論文題目 Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody suppressed hyper-permeability and cytokine production in human pulmonary endothelial cells infected with influenza A virus  
(抗 HMGB1 モノクローナル抗体は A 型インフルエンザウイルスに感染したヒト肺血管内皮細胞の透過性亢進及びサイトカイン産生を抑制した)

論文審査委員 教授 本田知之 教授 草野展周 教授 木浦勝行

#### 学位論文内容の要旨

High mobility group box 1 (HMGB1) は、A 型インフルエンザウイルスによる急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) に関与することが報告されている。今回我々は、ヒト肺血管内皮細胞 (HMVEC) を用いた Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 刺激および A 型インフルエンザウイルス感染の *in vitro* モデルを用いて、抗 HMGB1 monoclonal antibody (mAb) の有効性を検討した。

抗 HMGB1 mAb またはコントロール mAb の存在下で、TNF- $\alpha$  刺激または A 型インフルエンザウイルス感染を受けた HMVEC の血管透過性を Boyden chamber assay を用いて定量した。HMGB1 の細胞内局在は、免疫染色により評価した。細胞外のサイトカイン濃度と細胞内のウイルス mRNA の発現は、それぞれ酵素結合免疫吸着法と quantitative reverse transcription PCR 法により定量した。

TNF- $\alpha$  刺激や A 型インフルエンザ感染により、血管透過性が亢進し、HMVEC は伸長し、細胞間隙が拡大した。抗 HMGB1 mAb は、透過性の増加と細胞形態の変化の両方を抑制した。非感染細胞では HMGB1 の細胞質への移行が観察された。抗 HMGB1 mAb は、ウイルスの複製を抑制することはできなかったが、HMVEC におけるサイトカインの産生を抑制した。

抗 HMGB1 mAb が重症インフルエンザ ARDS に対する有効な治療法となりうる可能性が示唆された。

#### 論文審査結果の要旨

High mobility group box 1 (HMGB1) は、A 型インフルエンザウイルスによる急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) に関与することが報告されている。本研究において、本研究者は、ヒト肺血管内皮細胞 (HMVEC) を用いた Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 刺激および A 型インフルエンザウイルス感染の *in vitro* モデルを用いて、抗 HMGB1 monoclonal antibody (mAb) の有効性を検討した。

TNF- $\alpha$  刺激や A 型インフルエンザ感染により、血管透過性が亢進し、HMVEC は伸長し、細胞間隙が拡大した。抗 HMGB1 mAb は、透過性の増加と細胞形態の変化の両方を抑制した。非感染細胞では HMGB1 の細胞質への移行が観察された。抗 HMGB1 mAb は、ウイルスの複製を抑制することはできなかったが、HMVEC におけるサイトカインの産生を抑制した。これらのことから、抗 HMGB1 mAb が重症インフルエンザ ARDS に対する有効な治療法となりうる可能性が示唆された。

委員からは、抗 HMGB1 抗体の投与のタイミングについての質問があった。本研究者は、本研究では投与あるいは感染と同時にあったが、HMGB1 は肺炎後期に上昇することもあり、比較的遅れても効果があるのではないかと回答した。また、今後肺炎を起こした後での投与の検討も行うべきであるとも述べた。

本研究は、A 型インフルエンザウイルスに感染したヒト肺血管内皮細胞の透過性亢進及びサイトカイン産生における抗 HMGB1 モノクローナル抗体の抑制効果等について、重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。