

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	川住 知弘
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
<p>Co-Expression and Localization of Angiotensin-Converting Enzyme-2 (ACE2) and the Transmembrane Serine Protease 2 (TMPRSS2) in Paranasal Ciliated Epithelium of Patients with Chronic Rhinosinusitis</p> <p>(慢性副鼻腔炎患者の線毛上皮における ACE2 と TMPRSS2 の共局在について)</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	服部 登	印
審査委員	教授	坂口 剛正	
審査委員	講師	岩本 博志	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の原因ウイルスである SARS-CoV-2 はアンジオテンシン変換酵素 II 型（ACE2）と II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ（TMPRSS2）を侵入経路とするため、宿主細胞における ACE2 と TMPRSS2 の共発現は感染の必要条件である。ウイルス受容体の発現量は組織ごとに異なり、特に気道系では鼻腔上皮で ACE2 と TMPRSS2 の共発現が最も亢進しているとされる。COVID-19 の重症化因子である慢性閉塞性肺疾患（COPD）では ACE2 と TMPRSS2 の発現が亢進するとされ、I 型炎症による両分子への影響が示唆される。鼻副鼻腔領域の炎症性疾患として代表的な慢性副鼻腔炎（CRS）は II 型炎症を主体とする好酸球性副鼻腔炎（ECRS）と I 型炎症を主体とする非好酸球性副鼻腔炎（non-ECRS）に分類され、それぞれの異なる病態生理がウイルス受容体の発現に与える影響は解明されていない。</p> <p>本研究では、慢性副鼻腔炎患者における ACE2 と TMPRSS2 の遺伝子発現と蛋白質分布を評価した。</p> <p>本施設で内視鏡下副鼻腔手術を行った慢性副鼻腔炎患者 69 例を対象とし、ECRS 群 38 例、non-ECRS 群 31 例に分類した。また同時期に手術した副鼻腔炎のない 25 例を対照群とした。ECRS は JESREC スコアを用いて診断し、術前 4 週間よりステロイド使用を中止した。</p> <p>術中採取した副鼻腔粘膜を背景疾患ごとに分類し、ACE2 と TMPRSS2 と炎症性サイトカイン（IFN-γ、TNF-α、IL-1β、IL-13）の mRNA 発現量を RT-PCR 法（TaqMan アッセイ法）を用いて測定するとともに、免疫組織化学染色法（酵素抗体法、蛍光抗体法）を用いて両分子の副鼻腔粘膜における局在を評価した。また HE 染色を用いて各組織の病理所見と好酸球浸潤の程度を評価した。蛍光顕微鏡は共焦点顕微鏡（Fluoview FV-1000 D；オリンパス）を用いて取得した。</p> <p>統計処理に関しては、群間比較に Mann-Whitney の U 検定、Kruskal-Wallis 検定を用い、質的データにはカイ二乗検定を用いた。相関係数には Spearman の相関係数を用いた。</p> <p>Non-ECRS 群は ECRS 群と比較して ACE2 と TMPRSS2、TNF-α の mRNA が有意に高発現していた（全て P<0.001）。IL-13 は ECRS 群で有意に発現が亢進し</p>			

ていた ($P < 0.001$)。IFN- γ 、IL-18 は各群間で有意差を示さなかった。

両分子の mRNA 発現量は IFN- γ 、TNF- α と有意に正の相関を示し、好酸球数と負の相関を示した (全て $P < 0.001$)。他のサイトカインにはあきらかな相関関係は認めなかった。また ACE2 と TMPRSS2 は有意に正の相関を示した ($P < 0.001$)。

免疫組織化学染色では、ACE2 と TMPRSS2 は non-ECRS 群と control 群で主に上皮層に沿って局在しており、ECRS 群は non-ECRS 群と比較して発現の低下を認めた。蛍光抗体法を用いて観察すると、上記と同様の傾向を示した。さらに微分干渉法を用いて上皮層の形態とウイルス受容体の局在について検討したところ、ACE2 と TMPRSS2 は共に線毛上皮細胞に共局在していた。線毛のマーカーである抗 AC tubulin 抗体を用いて観察したところ、同様の結果が得られた。

副鼻腔粘膜における ACE2 と TMPRSS2 の発現は ECRS 患者で減弱し、IFN- γ や TNF- α といった I 型炎症由来のサイトカインと有意な正の相関を示した。また、両分子は線毛上皮に共発現し、副鼻腔粘膜がウイルスの侵入門戸となることが示唆された。

以上の結果から、本論文は鼻副鼻腔領域における SARS-CoV-2 受容体の発現制御機構の解明に有益な情報を提供している点が高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。