

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

嶋崎 孝輔

主論文の題目

題 目 Role of layilin in human synovial Fibroblasts revealed by proteomic analysis
(プロテオミクス法を用いた、ヒト滑膜線維芽細胞株におけるライリンの機能解析)

および

掲載誌 Integrative Molecular Medicine 2017; 4: 1-7

掲載誌・審査委員

主査 伊東 文生
副査 遊道 和雄
副査 北岡 康史

[論文の要旨・価値]

関節リウマチ(RA)における骨破壊に活性化破骨細胞は重要である。滑膜炎により増殖した滑膜が TNF α などを産生、滑膜マクロファージが滑膜線維芽細胞の支持のもとで破骨細胞に分化する。TNF α は上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transformation, EMT) 誘導転写因子 Snail を介して滑膜線維芽細胞を活性化する。ライリンは尿細管上皮細胞において TNF- α 刺激により増加、また TNF- α 誘導性 EMT に必須であることが証明されている。しかし、滑膜線維芽細胞におけるライリンの役割は EMT との関連を含め明らかでない。本研究では滑膜線維芽細胞株での TNF- α 存在下・非存在下で small interfering RNA (si-RNA) によるライリンの発現抑制が発現蛋白質にどのような影響を与えるかをプロテオミクスを用いて網羅的に検討した。リアルタイム PCR では、siL によりライリンの発現は約 7% まで抑制されていた。無刺激時、および TNF- α 刺激時における、siL 群と siC 群との蛋白質プロファイルと比較した。方法は、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析システム (2D-DIGE) を用いた。2D-DIGE による蛋白質展開の結果では、1092 個の蛋白質スポットが検出された。無刺激時で siL によってスポット強度が ± 1.3 倍以上変化した蛋白質スポットが 53 個、TNF- α 刺激時で siL によってスポット強度が ± 1.3 倍以上変化した蛋白質スポット 34 個あった。計 87 個を質量分析の対象とした。質量分析の結果、24 個の蛋白質スポットが同定された。24 個の蛋白質スポットのうち 15 スポット (62.5%) で同定された蛋白質が、EMT との関連が報告されていた。このことより、RA 病態でライリンは EMT に関与する可能性が考えられた。15 スポットで同定された EMT 関連蛋白質のうち、10 個は EMT を促進する、5 個は EMT を抑制するものであった。10 個の蛋白質のうち、7 個は siL により増加し 3 個は減少した。5 個の蛋白質のうち、4 個は siL により減少し 1 個は増加した。それゆえ、ライリンの EMT に対する影響は現段階では決定できず、今後 EMT におけるライリンのより正確な役割を明らかにする必要があると思われた。ライリンは滑膜線維芽細胞において EMT 関連蛋白質の調節に深く関与していることが示唆され、RA 治療における関節破壊阻止機構につながりうる重要な知見を示した。

[審査概要]

主査と副査 2 名、加藤指導教授、仁木指導教授ほか数名の陪席のもと、power point を用いた発表があり、その後質疑応答が行われた。①siRNA によるライリン抑制の陰性コントロールは何か②2D-DIGE の特徴は③有意に増加しているとする数量的根拠は④間質細胞でも EMT と呼ぶか⑤ライリンの生理的機能は何か⑥治療への展開はなど多岐にわたる質問が出たが、それぞれの確に回答した。また今後の研究展開についても言及した。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価]

発表は分かりやすく power point 資料もよく構成されていた。内容からも申請者は本研究に関する幅広い知識を持っていると判断した。質疑応答に関しても誠実な態度であり、かつ丁寧に回答し、学位を授与するに値する人物であると判断した。英語能力は引用論文の翻訳を行い充分能力があった。

