

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

梶 友紘

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題目 Layilin Enhances the Invasive Ability of Malignant Glioma Cells via SNAI1 Signaling
(ライリンは SNAI1 シグナルを介して悪性神経膠腫細胞の浸潤能を高める)

掲載誌 Brain Research 2019 ; 1719 : 140-147

主査 遊道 和雄

副査 熊井 俊夫

副査 藤井 亮爾

[論文の要旨・価値]

(背景・目的) 悪性神経膠腫 (malignant glioma, MG) は、高い浸潤性を有する予後不良の悪性腫瘍で、転写因子 snail family transcriptional repressor 1 (SNAI1) が MG の浸潤性の獲得および増強に寄与することが報告されている。SNAI1 は matrix metalloproteinase (MMP)-2 や MMP-9 の発現を増強し、基底膜を構成する collagen IV の分解を促進し、細胞の浸潤能を誘導することが知られている。また、MG の浸潤性獲得・増強の過程は、遺伝子の発現パターンから上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) と類似しており、最近では神経膠細胞あるいは神経膠腫細胞が間葉系細胞の性質を強める変化を「glial-mesenchymal transition (GMT)」と呼び、細胞生物学的解析が進められている。

学位申請者らの研究チームは、これまでに C 型レクチン様の I 型膜蛋白質のライリン (ヒアルロン酸受容体、細胞間接着因子として知られている) が TNF- α が誘導する尿細管細胞の EMT に必須の分子であることを明らかにしてきた。こうした研究背景を基に学位申請者は、ライリンが MG の GMT を誘導し、浸潤性の獲得・増強に関与するのではないかという仮説を立て、ヒト MG 細胞株におけるライリンの発現ならびにライリンが GMT に関与するか否かについて解析を行なった。

(方法・対象) ① ヒト MG 細胞株 (U251-MG、A172 および T98G)、アストロサイト (positive control) を培養し、既報に則って、ウェスタンブロットにてライリンの発現を、蛍光免疫細胞染色によりライリンの細胞内局在を解析した。2 種類のライリン siRNA の導入により MG 細胞株のライリン発現を抑制した条件下で RNA および蛋白質を抽出し、② 定量 PCR により SNAI1、その制御を受ける 3 分子下流 (MMP-2、MMP-9 および COL1A1) および SNAI1 の転写抑制因子 metastasis associated 1 family member 3 (MTA3) の mRNA 量を解析し、③ 抽出蛋白質を用いたウェスタンブロットにより SNAI1 と SNAI2 のリン酸化に関与するシグナル分子 (GSK-3 β 、Akt、ERK) の蛋白質量、そのリン酸化量、MTA3 量を検討した。また、④ SNAI1 及び MTA3 に関しては、核分画から蛋白質を抽出して核内タンパク量をウェスタンブロットで解析した。⑤ siRNA によりライリン発現を抑制した MG 株 (A172) 細胞を wound healing assay に供し、細胞の浸潤能を評価し、MG の浸潤性におけるライリンの関与を考察した。

(結果・考察) i) ライリンは、アストロサイトと比較して MG 細胞株で発現が増強しており、かつ、細胞膜での局在は認められず、主としてゴルジ体と小胞体に局在することが明らかとなった。ii) siRNA によるライリン発現抑制の条件下で SNAI1 mRNA は抑制され、さらに SNAI1 蛋白質量は総量・核内量共に減少し、それに伴って SNAI1 の標的遺伝子 MMP-2、MMP-9、COL1A1 の発現も減少することが明らかとなった。iii) ライリン発現抑制により SNAI1 の転写抑制因子 MTA3 の mRNA 量は変化しなかったが、その蛋白質量は総量・核内量共に増加した。iv) ライリン発現抑制により MG 細胞株の浸潤能は低下することが確認された。これらの結果から申請者は、MG 細胞においてライリンは、SNAI1 の転写抑制因子 MTA3 を抑制することで SNAI1 を増加させ、その結果 MMP-9、-2 の発現を誘導することで細胞浸潤性の獲得・増強に寄与すると考察している。本研究は、MG の浸潤性獲得・制御のメカニズムに関する重要な知見を提供したもので、学位論文に値すると評価した。

[審査概要]

学位審査は 令和元年 11 月 20 日に主査・副査および陪席者を伴って、申請者による約 30 分間の発表の後、審査員から研究目的、実験方法の詳細、研究データの解釈、考察の妥当性、臨床的意義および今後の展望についての 20 分間の質疑応答により行なわれ、申請者は懇切丁寧に明確に回答し、さらに専門性を広げていきたいという意欲が感じられた。英文読解力は、指定した英文文献の和訳によって評価し、十分な能力があると判断した。以上より、学位授与に値すると判定した。

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]

研究遂行能力は十分あり、当該研究領域の今後の課題の検討、さらには将来展望についても明確な 考えを示すことができ、高い研究能力、専門知識と語学力を十分に有するものと判断した。