

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

丑丸 秀

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題目 Roles of Layilin in Regulation of Low-Density Lipoprotein Receptor in Malignant Glioma Cells (悪性神経膠腫細胞における LDL 受容体の制御に対するライリンの役割)

掲載誌 Journal of St. Marianna University 2020; 11: 1-11

主査 舩橋 利也
副査 田中 雄一郎
副査 砂川 優

[論文の要旨・価値] Layilin は I 型膜貫通タンパク質の構造を有し、N 末端側の細胞外とされる領域に C 型レクチン様モチーフを持つ。当グループは、Layilin が、Tumor Necrosis Factor- α (TNF α) によって誘導される epithelial-mesenchymal transition (EMT) 様変化を誘導すること、予後不良の疾患である悪性神経膠腫 (malignant glioma, MG) の細胞株において、snail family transcriptional repressor 1 (SNAIL) による浸潤性に関与すること報告している。MG 細胞の特徴のひとつとして、low-density lipoprotein receptor (LDLR) の強発現が指摘されている。しかし、Layilin と LDLR の関係に関して報告はない。そこで本研究では、MG 細胞において、Layilin が LDLR の存在量や LDLR を介した LDL の取り込みに影響を及ぼすか否かを検討した。

[方法] ヒト MG 細胞株 A172 細胞に siRNA を導入して、Layilin の発現を抑制し、24~72 時間後に RNA およびタンパク質を抽出、定量 PCR により LDLR の mRNA 量を測定した。抽出タンパク質は、ウェスタンブロットに供し、発現量を調べた。さらに、蛍光色素標識された LDL (LDL-DylightTM550) を含む培地で培養し、6 時間後に、蛍光顕微鏡で観察し LDL 取り込み量を調べた。[結果] 今回用いた siRNA により Layilin の発現が mRNA およびタンパク質レベルで有意に抑制されることを確認した。Layilin siRNA により LDLR の mRNA は変化しなかったが、LDLR タンパク質量は有意に増加した。さらに、細胞内への LDL 取り込み実験の結果、Layilin siRNA により LDL の取り込み量は有意に増加した。[考察] 本研究の結果から、Layilin は LDLR タンパク質の安定性を低下させる可能性が示唆された。一般に LDLR は分解の程度により調節されることが報告されている。そのため、Layilin が直接 LDLR に働く可能性のほか、他のタンパク質を介して LDLR タンパク質の安定性を低下させている可能性も考えられる。MG では、LDLR が高発現であるため、治療標的として注目されている。しかしこれまでに当グループは、Layilin は TNF α により誘導される EMT に必須であること、MG 細胞の浸潤能を高めることを報告している。従って本研究は、先行研究と一部相反する結果となった。この点を解決するためには、Layilin が関与する EMT における LDL/LDLR の役割や、LDL/LDLR 誘導性 EMT における Layilin の役割などについて今後明らかにする必要がある。

[審査概要] 主査、副査 2 名、指導教授、他複数の陪席人のもと、研究の背景の説明、今回の研究に関して、パワーポイントを用いて、プレゼンテーションが行われた。よくまとまっており、方法の説明、解析、研究の問題点、今後の臨床応用など、大変わかりやすいものであった。引き続いて質疑応答があり、1) LDL は脳血液関門を通過しないので脳内でコレステロールが合成されるのか、2) LDLR の発現と相関するのは何か、3) 癌の悪性度と LDLR は相関するのか、など多岐にわたる質問がなされたが、概ね的確に答え、満足のいく回答がなされた。終始真摯な態度で明確に答弁し、また、今後の展望や臨床応用なども加えて、さらなる発展が期待される。

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] 英語能力は、原著論文が英語であること、その場で、引用文献の abstract の和訳の正確性などから判断して十分であると認識した。