

論文審査の要旨	
筆頭著者（学位申請者）氏名	津野 宏隆
主論文の題目 および 掲載誌・審査委員	題 目 Effects of Methotrexate and Salazosulfapyridine on Protein Profiles of Exosomes Derived from a Human Synovial Sarcoma Cell Line of SW982. (滑膜肉腫細胞株 SW982 由来エクソソームの蛋白質プロファイルに対する、メトトレキサートとサラゾスルファピリジンの効果の検討)
	掲載誌 Proteomics Clinical Applications (2015, in press)
	主査 遊道 和雄
	副査 熊井 俊夫 副査 武永 美津子
〔論文の要旨・価値〕 本研究は、細胞から分泌される脂質二重膜の細胞外膜小胞（エクソソーム；直径 30-100nm）が持つ様々な免疫調節機能に注目し、自己免疫疾患の関節リウマチ（RA）の病態解明に向けた基礎研究である。このエクソソームには様々な蛋白質や RNA が含有されており、これまでに RA 患者の関節液中のエクソソームには腫瘍壊死因子 TNF-α やシトルリン化蛋白質が存在することや、炎症性サイトカイン IL-1β で刺激した滑膜細胞から放出されたエクソソームが軟骨細胞からの軟骨基質分解酵素 MMP-13 産生を増加させるという報告があり、RA の病態にエクソソームが関与していることが示唆されている。 そこで学位申請者らは、RA 病態へのエクソソームの関与を詳らかにするため、本研究ではエクソソームを介した抗リウマチ薬の作用機序を解析する実験を計画し、抗リウマチ薬や炎症性サイトカインを RA 滑膜細胞に類似した細胞特性を持つ滑膜肉腫細胞株 SW982 に添加し、エクソソーム蛋白質のプロファイルの変化をプロテオミクスの手法を用いて解析した。実験では、培養 SW982 細胞に IL-1β 存在・非存在下に抗リウマチ薬のサラゾスルファピリジン（SASP）またはメトトレキサート（MTX）を添加して 48 時間培養後、エクソソーム回収用試薬 Exoquick®を用いて培養上清からエクソソームを回収し、蛍光ディファレンシャル二次元電気泳動法により蛋白質を分離した後、質量分析法により蛋白発現量が有意に変化したスポットの蛋白質同定が行なわれた。 注目すべき結果として、SASP、MTX の添加により 2 倍以上の蛍光強度差がみられた 35 スポットと、IL-1β 添加による発現変化が SASP と MTX の添加により抑制された 21 スポットについて、それぞれ 35 個中 17 個及び 21 個中 14 個の蛋白質が質量分析法により同定された。同定された蛋白質は機能的に 3 つのグループ（①免疫機構に関与；Ras-related protein Rab-7b、GTP-binding nuclear protein Ran 等、②酸化ストレスに関与；NAD(P)H dehydrogenase 1、③それ以外）に分類され、今後も研究を進められるとのことである。また、抗リウマチ薬投与によりエクソソーム中で有意な量的変化を認めた蛋白質でも、細胞内の発現量は変化していないことも明らかにした。 これらの結果から申請者は、抗リウマチ薬によるエクソソーム中の蛋白質プロファイルの変化は、細胞内における蛋白発現量の変化に起因するものではなく、細胞内でエクソソームが生成される機構（細胞外膜小胞の形成、細胞外への分泌機構など）に抗リウマチ薬が影響した可能性を考察しており、抗リウマチ薬効果発現の新機序解明の糸口を示したものと考える。本研究は、RA 病態解明ならびに抗リウマチ薬開発に資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、平成 27 年 10 月 22 日に主査副査および数名の陪席者を伴って、申請者による約 30 分間のプレゼンテーションの後、審査員から研究目的、臨床的意義、実験方法上の問題点、研究データの解釈、考察の妥当性および今後の展望についての約 25 分間の質疑応答により行なわれた。申請者はこれらの質問に懇切丁寧に明確に回答し、研究分野及び周辺領域について深い知識を持ち、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たところ、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。	