

本多 教稔 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

強皮症皮膚線維芽細胞における microRNA-196a の役割
(The role of microRNA-196a in scleroderma dermal fibroblasts)

microRNA (miRNA) は、ノンコーディング RNA の一種で平均 22 塩基程度の長さを持ち、mRNA の 3' 非翻訳領域の相補的配列に結合し、標的 mRNA の安定性やタンパク質への翻訳を阻害することで、遺伝子発現調節を行っている。全身性強皮症は、皮膚だけでなく様々な組織の線維化を特徴とする慢性疾患である。transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) シグナルの活性化による 1 型コラーゲンの過剰産生が線維化機構に重要な役割を担っていることが示唆されているが、その詳細な分子機構は不明である。申請者は、全身性強皮症における皮膚線維化の機構に miRNA が関与していることを明らかにすることを目的として、以下のような様々な解析を行った。

正常皮膚線維芽細胞および強皮症皮膚線維芽細胞を TGF- β 1 で刺激後、miRNA を抽出し、各 miRNA の発現について網羅的に解析した。培養皮膚線維芽細胞における miRNA 量を、定量 PCR 法にて検討した。また、同細胞の 1 型コラーゲン量をウエスタンブロット法にて解析した。miRNA インヒビターならびに miRNA mimic を用いて miRNA の機能解析を行った。正常ヒト皮膚および強皮症患者の皮膚組織における miRNA の発現は、in situ ハイブリダイゼーション法ならびに定量 PCR 法にて解析した。さらに強皮症患者ならびに健常人から採血し、血清中の miRNA 濃度について定量 PCR 法にて比較検討した。

正常皮膚線維芽細胞および強皮症皮膚線維芽細胞において TGF- β 1 刺激により発現が低下する miRNA を複数同定した。その中で、miR-196a は、培養強皮症皮膚線維芽細胞および強皮症患者皮膚のいずれにおいても発現が低下していた。TGF- β 1 を阻害すると強皮症皮膚線維芽細胞における同 miRNA の発現が上昇した。正常皮膚線維芽細胞において miRNA-196a の発現を阻害すると、1 型コラーゲンの発現が増加し、強皮症皮膚線維芽細胞において miRNA-196a の発現を増加させると 1 型コラーゲンの発現が低下した。健常人と強皮症患者の血清における miRNA-196a 濃度には、優位差は認めなかった。しかし強皮症患者血清で miR-196a 濃度が低値を示す群では、びまん性皮膚全身性硬化症の割合とロッドマン変法スキンスコアが有意に高く、また皮膚潰瘍有病率とも相関があった。以上より申請者は、miRNA-196a が強皮症の線維化に関与し、強皮症患者において血清 miR-196a 値が 1 型コラーゲンの産生の活動性を反映する疾病マーカーとなり得ると結論づけた。

審査では、直接 1 型コラーゲンを測定する方法の有無、強皮症に関連して発現が増加する miRNA の有無、TGF- β 1 が miRNA-196a を抑制する分子機構、健常者と強皮症患者血清における miRNA-196a 濃度に有意差が無かったが疾病マーカーになり得ると結論づけた根拠、miR-196a の 1 型コラーゲン以外の標的遺伝子、miR-196a 血清濃度の疾患予後予測への応用の可能性、miRNA をターゲットとした治療法の可能性などについての質疑がなされ、申請者より適切な回答がなされた。

本研究は、全身性強皮症における皮膚線維化の分子機構を明らかにし、さらに miRNA を標的とした新たな治療法の可能性を示唆したものであり、医学の発展に貢献する有意義な研究であり、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 分子生理学担当教授

富澤 一仁