

高橋 枝里 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

上皮間葉転換におけるヒアルロン酸-CD44 結合の役割
(Role of hyaluronan-CD44 interaction in epithelial-mesenchymal transition)

上皮間葉転換 (EMT) は、個体発生の過程で上皮細胞が間葉細胞の性質に転換する現象として提唱されたが、慢性炎症による組織の線維化や癌の浸潤・転移など、様々な病態に関与することが判明してきた。同様に、細胞の微小環境としての細胞外マトリックスもこれらの病態に関与することが報告されている。しかしながら、EMT と細胞—細胞外マトリックスの相互作用がどのように関連するかは明らかではない。本論文では、網膜色素上皮細胞で EMT を誘導する系を確立し、ヒアルロン酸-CD44 結合が EMT に関わる機序を明らかにすることを目的とした。

ヒト網膜色素上皮細胞をサイトカインや増殖因子で刺激し、線維性集塊の形成、マイクロアレイと RT-PCR 法による遺伝子発現、上皮・間葉の細胞マーカーのウエスタンブロット法を用いて、EMT を誘導する系を検討した。EMT 誘導系において、各種の阻害剤を用いて関連する経路と分子を同定し、RNA 干渉法でこれらの因子を特異的に抑制することで解析した。ヒアルロン酸の合成・結合能、細胞運動能等も含めて検討した。さらに、マウス網膜色素上皮細胞の組織培養、マウス眼における EMT モデルを用いて、上記の結果について生体内で検証した。その結果、TNF- α で刺激した網膜色素上皮細胞は、形態学的に伸長した間葉系細胞様に変化し、長期培養で細胞外マトリックスと細胞成分に富んだ線維性集塊を形成した。この変化は TGF- β 受容体阻害剤によって抑制されることから、TNF- α は TGF- β と協調して網膜色素上皮細胞の EMT を誘導すると考えられた。また、ヒアルロン酸合成阻害剤によって、この形質転換は抑制されるため、細胞外マトリックスを構成するヒアルロン酸が関与することが判明した。また、TNF- α 刺激は protein kinase C を活性化し、Ezrin-Radixin-Moesin 膜裏打ちタンパク質がリン酸化されて、細胞膜上でヒアルロン酸とその受容体 CD44 および Moesin の複合体が形成された。ヒアルロン酸-CD44-Moesin 複合体の形成が、細胞骨格の再構築および細胞間接着の解離を促すことで、間葉系細胞様の形質が維持されることが示唆された。また、TNF- α 刺激で活性化されたヒアルロン酸-CD44-Moesin 複合体は、TGF- β 経路の活性化にも関わることが分かった。さらに、網膜色素上皮細胞の組織培養およびマウス眼において、TNF- α 刺激によって同様の線維化様変化が誘導されるが、他方、CD44 ノックアウトマウスでは線維化様変化が抑制された。以上より、TNF- α で誘導される網膜色素上皮細胞の EMT にヒアルロン酸—CD44 の相互作用が重要な役割を果たすことが示唆された。

審査において、①線維性集塊の性状と EMT の検証法、②EMT における細胞接着とカドヘリンの変化、③ヒアルロン酸-CD44-Moesin 複合体の細胞内局在、④CD44 切断と細胞運動性、⑤細胞微小環境と細胞外マトリックスの意義、⑥CD44 ノックアウトマウスの眼形成、⑦線維化に関わるコラーゲンの種類、⑧TNF- α 経路、TGF- β 経路、ヒアルロン酸-CD44 経路の相互関係、⑨これらの 3 経路に対する各種阻害剤の効果の相違、⑩間葉上皮転換についての考察、などについて質問が出され、発表者からは適切な答えと討論がなされた。

本論文は、TNF- α で誘導されるヒアルロン酸-CD44 複合体が網膜色素上皮細胞の EMT に関与することを明らかにしたものであり、この相互作用を抑制することで EMT を阻害する治療戦略となる可能性等に関する理解に貢献するものと高く評価する。

審査委員長 細胞医学担当教授

中尾 亮善

審査結果

学位申請者名：高橋 枝里

専攻分野：視機能病態学

学位論文題名：

上皮間葉転換におけるヒアルロン酸-CD44 結合の役割
(Role of hyaluronan-CD44 interaction in epithelial-mesenchymal transition)

指導： 谷原 秀信 教授

判定結果：

ⓐ

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成22年2月 / 〇 日

審査委員長 細胞医学担当教授

中尾 光善

審査委員 細胞病理学担当教授

竹内 元裕

審査委員 頭頸部感覚病態学担当教授

湯本 英二