

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 小林 正明

〔題名〕

ミオカルディン関連転写因子Aシグナル伝達阻害による網膜色素上皮細胞の上皮間葉系移行に対する抑制効果の検討

〔要旨〕

目的 網膜色素上皮(RPE)細胞における上皮間葉転換(EMT)は、黄斑変性症に代表される網膜下線維症の発症及び増悪に関与している。ミオカルディン関連転写因子(MRTF)-AがRPE細胞のEMTに及ぼす影響を検討した。

方法 培養ヒトRPE-1細胞の遊走能をスクラッチアッセイで評価した。RPE-1細胞におけるMRTF-Aの細胞内分布を免疫蛍光染色法及びウエスタンブロッティング法により解析した。RPE-1細胞における α 平滑筋アクチン(α -SMA)、I型コラーゲン(COL1)、結合組織成長因子(CTGF)、パキシリンについて、ウエスタンブロッティング法またはRT-qPCR法によって解析した。マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)-2はゼラチンザイモグラフィで評価した。マウスモデルにおいて、網膜光凝固によって誘導した網膜下線維症を蛍光免疫染色法により解析した。

結果 MRTF-Aシグナル伝達阻害剤CCG-1423は、濃度依存的にRPE-1細胞の遊走を抑制した。トランスフォーミング増殖因子(TGF)- β 2は、RPE-1細胞におけるMRTF-Aの核内移行を誘導し、CCG-1423はこれを抑制した。TGF- β 2は、 α -SMA、パキシリン、pro MMP-2におけるタンパク質量、及び α -SMA、COL1、CTGFのmRNA量を増加させ、CCG-1423はこれらを抑制した。CCG-1423を硝子体腔内投与することで、網膜光凝固により誘導された網膜下線維症が抑制された。

結論 RPE細胞のEMT及び*in vivo*における網膜下線維症の形成にMRTF-Aが関与することを示した。網膜下線維症を有する眼疾患において、MRTF-Aが潜在的な治療標的になり得ることが示された。

(様式9号)

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1534号	氏 名	小林 正明
論文審査担当者	主査教授	下村 裕	
	副査教授	浅井 義之	
	副査教授	木村 幸治	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
ミオカルディン関連転写因子A シグナル伝達阻害による網膜色素上皮細胞の上皮間葉系移行に対する抑制効果の検討			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Suppression of Epithelial-Mesenchymal Transition in Retinal Pigment Epithelial Cells by an MRTF-A Inhibitor (ミオカルディン関連転写因子A 阻害剤による網膜色素上皮細胞における上皮間葉系移行の抑制)			
掲載雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science 第 60 巻 第 2 号 P. 528 ~ 537 (2019年 2月 掲載 掲載予定)			
(論文審査の要旨)			
<p>網膜色素上皮 (RPE) 層を構成する RPE 細胞における上皮間葉系移行 (EMT) は、黄斑変性における網膜下線維症の形成に関与する。また、ミオカルディン関連転写因子 (MRTF) A が EMT 制御因子として報告されている。本研究では、MRTF-A と RPE 細胞における EMT の関連を明らかにした。</p> <p>実験は、培養ヒト RPE 細胞 (RPE-1) 及び MRTF-A シグナル阻害剤 (CCG-1423) を用いた。RPE-1 の移動能をスクラッチアッセイで評価した。RPE-1 における MRTF-A の細胞内分布を免疫蛍光染色及びイムノブロットングで解析した。RPE-1 における α 平滑筋アクチン (α-SMA)、I 型コラーゲン (COL1)、結合組織成長因子 (CTGF)、パキシリンについて、イムノブロットング及び RT-qPCR で解析した。プロマトリックスメタロプロテイナーゼ (pro-MMP) -2 はザイモグラフィーで評価した。動物実験は、C57BL/6J マウスを用いて、レーザー網膜光凝固で誘導した網膜下線維症を免疫蛍光染色にて解析した。スクラッチアッセイでは、CCG-1423 が濃度依存的に RPE-1 の細胞移動を抑制した。トランスフォーミング増殖因子 (TGF)-β2 は、RPE-1 における MRTF-A の核内移行を誘導し、CCG-1423 はこの反応を抑制した。TGF-β2 は、α-SMA、パキシリン、pro-MMP-2 の蛋白質量、及び α-SMA、COL1、CTGF における mRNA 量を増加させ、CCG-1423 はこれらの反応を抑制した。動物モデルでは、CCG-1423 をマウス硝子体腔内に投与することで網膜下線維症の増生が抑制された。</p> <p>本研究は、RPE 細胞の EMT 及び <i>in vivo</i> における網膜下線維症の形成に MRTF-A が関与することを示した。この結果から、網膜下線維症を有する眼疾患において、MRTF-A が治療標的になり得る可能性が示唆された。</p> <p>以上より本研究を学位論文として価値ある内容と認めた。</p>			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。