

## 牧野 雄成氏の学位論文審査の要旨

学位論文題目

全身性強皮症培養皮膚線維芽細胞における discoidin domain receptor 2 の  
I 型コラーゲン発現に与える影響およびその機序についての研究  
(Effects and mechanisms of discoidin domain receptor 2 on type I collagen  
expression in cultured scleroderma dermal fibroblasts)

全身性強皮症(systemic sclerosis、SSc)は、皮膚をはじめ多臓器に線維化を生じる膠原病である。病因は不明であるが、皮膚線維芽細胞自身が分泌する transforming growth factor 1 (TGF- $\beta$ 1) の活性化による I 型コラーゲンなどの細胞外基質の亢進が関与しているものと考えられる。Discoidin domain receptor 2 (DDR2)は細胞膜に存在する受容体型チロシンキナーゼで、I 型コラーゲンをリガンドとし、コラーゲン代謝を通して様々の細胞機能に関与する。申請者は、SSc における DDR2 の役割、および DDR2 による I 型コラーゲンの制御における microRNA (miRNA) の関与について検討を行った。また申請者は、SSc 培養皮膚線維芽細胞での過剰発現が報告されているインテグリン $\alpha$ v に着目し、インテグリン $\alpha$ v を標的とする miRNA である miR-142-3p の血清濃度を測定し、バイオマーカーとしての有用性についても検討を行った。

申請者は、SSc 培養皮膚線維芽細胞における DDR2 の mRNA・蛋白発現量が、健常人培養皮膚線維芽細胞と比較して有意に低下していることを見出した。この低下は、TGF- $\beta$ 1 の阻害により回復した。次にレンチウイルスベクターを用いて、健常人培養皮膚線維芽細胞に DDR2 を過剰発現させたところ、I 型コラーゲンの増加が認められた。一方、DDR2 の阻害は、I 型コラーゲンを標的とする miRNA である miR-196a 発現量の増加、ならびに I 型コラーゲンの低下をもたらした。SSc 培養皮膚線維芽細胞においては、DDR2 が減少しているにも関わらず、miR-196a 量は健常人より低下しており、DDR2 の阻害によっても miR-196a の増加が起らなかった。以上の結果から、SSc 培養皮膚線維芽細胞では TGF- $\beta$ 1 刺激により DDR2 が低下していること、また、DDR2 低下は、健常人皮膚線維芽細胞においては miR-196a 上昇を生じることで I 型コラーゲンの低下に寄与するが、SSc ではこの制御機構が障害されていることが想定された。さらに miR-196a 低下は SSc における過剰なコラーゲン産生の維持に関与する可能性が考えられた。一方、血清 miRNA 濃度の検討では、SSc の血清 miR-142-3p 濃度は健常人に比して有意に上昇しており、SSc の病態における血清 miR-142-3p の関与が示唆された。

審査においては、①TGF- $\beta$  刺激が DDR2 を低下させる機序、②DDR2 が miR-196a を調節する機序、③miRNA を細胞外へ輸送する機構、④血液中において miRNA が存在する理由、⑤全身性強皮症においてインテグリンが TGF- $\beta$  を活性化する機構、⑥DDR2 免疫染色の特異性、⑦ I 型コラーゲンの結合による DDR2 の構造変化、⑧DDR2 の下流における miR-196a 以外の経路、⑨miR-196a の血中濃度、⑩ブレオマイシン投与モデル、⑪血清 miR-142-3p が高値例の特徴などについて質疑応答がなされ、発表者から概ね適切な解答が得られた。

本論文は、全身性強皮症において DDR2 や、miR-196a、miR-142-3p などの miRNA がその病態に関与する可能性を示したものであり、当該疾患の病態解明ならびに診断・治療法の確立に寄与する可能性が期待され、学位の授与に値するものと評価した。

審査委員長 病態生化学担当教授

山縣 和也

審査結果

学位申請者名：牧野 雄成

専攻分野：皮膚機能病態学

学位論文題名：

全身性強皮症培養皮膚線維芽細胞における discoidin domain receptor 2 の I 型コラーゲン発現に与える影響およびその機序についての研究

(Effects and mechanisms of discoidin domain receptor 2 on type I collagen expression in cultured scleroderma dermal fibroblasts)

指導：尹 浩信 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文での再審査

可

不可

平成24年2月8日

審査委員長 病態生化学担当教授

山縣 和也

審査委員 多能性幹細胞学担当教授

原 昭苑

審査委員 腎臓内科学担当教授

富田 公夫

審査委員 分子病理学担当准教授

今村 隆寿