HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ミトコンドリアとケラチン5/14の結合および単純型表皮水疱症の発症病態に関する検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	須藤, 明日香
Description	配架番号：2215
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12111号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61810
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Asuka_Suto_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　須藤　明日香

	主査	教授　岩　永　敏　彦
審査担当者	副査	教授　大　場　雄　介
	副査	教授　清　野　研一郎
	副査	教授　畠　山　鎮　次

学 位 論 文 題 名

ミトコンドリアとケラチン 5/14 の結合および単純型表皮水疱症の発症病態に関する検討
(The connection between mitochondria and keratin 5/14; Implications for epidermolysis bullosa simplex pathogenesis)

申請者は表皮細胞におけるケラチンとミトコンドリアの結合について、さらに単純型表皮水疱症のミトコンドリア異常について明らかにした。肝臓でケラチン 8 を欠損したマウスでは、ミトコンドリア機能不全や形態学的異常が観察されており、過去にケラチンとミトコンドリアの関係性が示唆されていた。しかし、表皮細胞で特異的に発現するケラチン 5 または 14 とミトコンドリアが結合しているかは検討されていなかった。本研究では、ケラチン 5 および 14 とミトコンドリアの結合を詳しく検討した。単純型表皮水疱症は主にケラチン 5、14 の遺伝子異常で発症する皮膚疾患で、過去に患者皮膚でミトコンドリア異常が報告されているにも関わらず、ミトコンドリアに焦点を当てた研究は行われていなかった。神経変性疾患や心疾患についてはミトコンドリアの機能不全が多く報告されているが、申請者が皮膚疾患とミトコンドリア機能不全の関連を初めて明らかにしたことが特筆する点である。

審査会では副査の畠山教授と清野教授からケラチン 5 および 14 を欠損させた細胞のミトコンドリアの動的変化について質問を得た。申請者は、今後 shRNA という手法を用いて、表皮細胞のケラチンを欠損した細胞株を作製し、ケラチンを欠損した状態でミトコンドリアの動きを詳しく検討すると返答した。副査の畠山教授から表皮細胞以外のケラチンを発現する細胞でケラチンとミトコンドリアの結合を示す報告について質問があり、申請者は、ケラチン 8/18 に結合するケラチン結合蛋白質であるトリコプレインという蛋白質がミトコ

ンドリア外膜に局在する Mfn2 と結合することが報告されていると過去の報告について適切に返答した。また、ミトコンドリアとケラチン 14 の共局在の割合についての質問に対して、申請者は、蛍光抗体法と画像解析ソフトを用いた検討で正常なケラチン 14 とミトコンドリアの共局在率は 31.40% ± 3.3% (mean±SE) だが、単純型表皮水疱症の亜型である Dowling-Meara 型の患者と同じ変異を導入した表皮細胞では、9.70% ± 2.2% (mean±SE) であり、共局在率が有意に低下すること、ならびにケラチン変異体によるケラチン 14 とミトコンドリアの共局在の低下と、膜電位異常との相関については、過去の引用を用いて適切に回答した。

副査の大場教授から、ケラチンが凝集するメカニズムについて質問を受けた。申請者は、ケラチン type Ⅰ と type Ⅱ がヘテロ二量体を形成する際に重要なドメインだと考えられているロットドメインに変異が入り、凝集すると回答した。次いで、ケラチン 14 変異体の周りに存在するミトコンドリアについてどのような機序で運動性を制御されているのか質問を得た。申請者は、ケラチン 14 変異体の周りに局在するミトコンドリアは、微小管やアクチンなど正常な細胞骨格による輸送で制御されている可能性が考えられるが、今後も詳しく検討する必要があると回答した。また、学位論文の一部表現方法と、ケラチンの表記に関しての意見があり、大場教授の指摘に基づき学位論文を訂正した。

副査の清野教授から、ケラチン異常で発症する単純型表皮水疱症患者のミトコンドリア異常と病態発症の関連について質問を得た。申請者は、単純型表皮水疱症では患者皮膚に水疱が形成されるが、ミトコンドリア機能異常によって水疱が形成されるかについては詳細なメカニズムが不明であるため、今後は患者皮膚を用いた検討に力を入れたいと回答した。また、ケラチン異常に伴うミトコンドリア異常が何らかの機序で病態に関連しているのではないかと申請者に助言した。

主査の岩永教授からケラチンがミトコンドリアを輸送する方向性について質問を得た。申請者は、ケラチンがミトコンドリアを輸送する際に Mfn2 とモーター蛋白質が複合体を形成していると予測しており、細胞内移動の方向性が存在すると考えていると回答した。また、ケラチン上のミトコンドリアの動きについても質問があり、動画撮影でケラチン上のミトコンドリアの動きを今回の研究から初めて明らかにしたと回答した。

この論文は、表皮細胞のケラチン 5/14 とミトコンドリアの結合を明らかにしたこと、さらに単純型表皮水疱症のミトコンドリア異常を示した点で高い評価を得た。本研究の結果からミトコンドリアが疾患の病態に何らかの影響を持つことが予想されるが、患者細胞を用いた詳しい検討と、ミトコンドリア異常と病態の詳しいメカニズムの解明が今後の課題である。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。