HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ケロイドにおける炎症制御機構に関する検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	藤田, 宗純
Description	配架番号：2404
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13025号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70551
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Munezumi_Fujita_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　藤田　宗純

主査　教授　廣瀬　哲郎
審査担当者　副査　教授　石田　晋
副査　教授　清水　宏
副査　教授　畠山　鎮次

学 位 論 文 題 名

ケロイドにおける炎症制御機構に関する検討
(Studies on the mechanism for regulating inflammation in keloid)

申請者は、ケロイドにおいて、疾患関連遺伝子・NEDD4 上の rs8032158 SNP のリスク型 C/C がケロイド患者では多かったこと、リスク型のケロイドでは、表皮角化細胞、線維芽細胞で炎症回路の活性化が見られたこと、NEDD4 スプライスバリアント(SV) 3 の発現が高かったこと、NEDD4 SV3 が NF-κB 経路を活性化させることを示した。そして以上の結果から、NEDD4 SV3 が、ケロイドの慢性炎症および病態形成に関与している可能性について論じた。

発表後、以下の質疑応答があった。

副査の石田教授から、①NEDD4 SV3 の STAT3 経路に対する知見や、線維芽細胞が表皮角化細胞をプロモートするようなデータはあるのか、②NF-κB 経路は多岐の炎症性疾患に関係するが、NEDD4 はケロイド特異的な炎症を起こすのか、③NEDD4 SV3 は、NEDD4 SV1 や SV7 と機能に違いはあるのか質問があった。申請者は、①STAT3 に関しては、免疫組織化学染色での検討の他に、表皮角化細胞で SOCS3 の mRNA の発現を予備的に検討したが、有用なデータは得られなかったこと、線維芽細胞と表皮角化細胞の相互作用に関しては今後検討すべき事項であること、②rs8032158 SNP の関与が明らかな疾患はケロイドのみであるが、NEDD4 SV3 が他の炎症性疾患で発現が亢進しているかを調べ、NEDD4 SV3 がケロイドに特化したものか今後検討する必要があること、③ルシフェラーゼアッセイでは NF-κB 経路のプロモーター活性は SV1 よりも SV3 で有意に高かったが、詳細な機能の違いについて、タンパク質構造の異なる C2 ドメインのどの部分が機能差に関わっているかは今後の検証課題であること、をそれぞれ回答した。

次に、副査の畠山教授からは、①rs8032158 SNP の C と T の変化で、なぜ NEDD4 SV3 の発現が変わるのか、②rs8032158 SNP はスプライシング反応時の RNA のラリアット構造形成に関与するか、③NF-κB 経路のプロモーター活性は NEDD4 SV1 よりも SV3 で高かったということは、構造的にエクソン 6 部分が SV3 の働きに重要であるのか、④C/C のリスク患者で、NEDD4 SV3 の皮膚以外の発現について検討したか質問があった。申請者は、①rs8032158 SNP はイントロンに存在し、ブランチ部位に関わっている可能性が考えられること、②ラリアット構造に関与するかは検

討できていないこと、③NEDD4 SV3 の C2 ドメイン自体は、エクソン 7 から始まり、エクソン 6 部分の配列については詳細に検討していないこと、④皮膚以外の組織でも NEDD4 SV3 の発現を今後検証し、皮膚に特化しているか、SNP の影響を含めて検討したいこと、を回答した。続いて、NEDD4 SV1 と SV3 では、基質は同じで interaction 効率が SV3 の方が高い可能性、SV3 に特異的な基質が存在する可能性があること、RIP と SV3 との結合では、直接的ではなく複合体を形成して間接的に結合している可能性もあるという建設的な意見があった。

最後に、主査の廣瀬教授から、NEDD4 SV3 の発現が高くなる機序は、想定しているスプライシングの変化ではなく、エクソン 6 上流のプロモーターの活性化によるのではないかという質問があった。申請者は、エクソン 6 上流領域の検討はしていないと回答した。SNP の変化でなぜプロモーターの活性化が起こるかは不明ではあるが、スプライシングの変化によるというよりは、エクソン 6 の前の隠れたプロモーターが活性化されて、NEDD4 SV3 の発現が高まったと考える方が自然であり、結論を一部再考する必要性が生じた。また、NEDD4 SV3 の機能解析で、標的を見定めての RIP のみの検討ではバイアスがかかっている可能性があり、ノンバイアスな質量分析を行って他に関与している因子がないか検討することで、今後につながる研究となるという意見があった。

別時間で行われた副査の清水教授から、①NEDD4 の siRNA 実験で、線維芽細胞では行っていないのか、②炎症回路はケロイドの炎症の主な原因であると思うか質問があった。申請者は、①siRNA では NEDD4 の炎症回路に対する作用を検証するため皮膚の非免疫細胞である表皮角化細胞株を用いた、線維芽細胞では行っていないが、初代培養後の表皮角化細胞で siRNA 実験を行い同様の結果であった、②今回得られた研究結果から、ケロイドの炎症病態を説明する一つの機序であると考えられると回答した。

総じて、この論文は、すでに国内の学会でも高く評価され、これまで明らかでなかった NEDD4 によるケロイドの炎症機序に関する基礎および今後の臨床研究に有用な新知見を付与するものと期待される。

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。