HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	軟骨細胞におけるTMEM147依存的炎症回路制御機構についての解析［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	太田, 光俊
Description	配架番号：2443
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13429号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74333
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mitsutoshi_Ota_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　太田　光俊

	主査	教授	渥美　達也
審査担当者	副査	教授	有川　二郎
	副査	教授	小林　弘一
	副査	准教授	北村　秀光

学 位 論 文 題 名

軟骨細胞における TMEM147 依存的炎症回路制御機構についての解析
(Studies on the mechanism for regulating the inflammation amplifier via TMEM147 in chondrocytes)

変形性関節症（OA），関節リウマチ（RA）といった変性関節疾患は，軟骨損傷により関節機能不全を来す疾患である．しかし軟骨細胞自体が炎症を媒介するかどうかについては，十分に明らかとされていない．申請者らは先行研究で，「炎症回路」を報告した．これは非免疫系細胞に存在し，NF-κB 経路と STAT3 経路の同時活性化によって種々の炎症性物質が大量に発現し，恒常性が破綻するものである．本研究で申請者らは，OA 及び RA の発症に，軟骨細胞の炎症回路が炎症回路関連遺伝子の１つである TMEM147 を介して重要な役割を果たすという仮説を立てた．申請者らは，OA 及び RA の軟骨細胞における炎症回路の活性化を明らかとし，軟骨細胞特異的炎症回路ノックアウトマウス作成により，軟骨細胞の炎症回路を抑制することで関節炎が制御可能であることを示した．また TMEM147 が炎症回路の NF-κB 経路における BCR-CK2α-p65 複合体形成の足場として働いていることを明らかとし，抗 TMEM147 抗体が炎症回路を抑制し，関節炎をも抑えることを示した．

審査にあたり，まず副査の有川教授から TMEM147 と抗 TMEM147 抗体の構造と，抗体作成方法について質問があり，申請者は現時点で TMEM147 の高次構造は不明であるが，既報及び構造予測から TMEM147 の膜外ドメインと考えられる部位に対する抗体を，外部業者に委託し作成したと回答した．更に抗体の作用機序について質問があり，申請者は TMEM147 が低分子量のタンパク質であることから，抗体結合により TMEM147 と他タンパク質との結合が物理的に阻害される可能性，抗体結合により TMEM147 の高次構造が変化して他タンパク質と結合不能となる可能性が考えられると回答した．

次に副査の小林教授から，実験に用いた細胞種によって NF-κB 経路を刺激するサイトカインが異なっている理由について質問があり，申請者は同じ NF-κB 経路を刺激するサイトカインでも，細胞種により炎症回路の活性化度合いに差がみられるため，変化の違いを検出する実験においては炎症回路の活性化がより強くみられるサイトカインを用いた方がその差を鋭敏に検出できると考え，異なるサイトカインを用いたと回答した．更に p65 は細胞膜に存在しているのか質問

があり，申請者は細胞膜に存在するとは考えないが，先行研究で BCR-CK2-p65 複合体は細胞膜に存在する TNF-R と結合することが明らかとなっており，p65 は細胞膜近傍にも存在していると考えられる．よって TMEM147 が p65 と結合することに矛盾はないと思われると回答した．

続いて副査の北村准教授から，TMEM147 は細胞膜上に存在しているのかという質問があり，申請者は既報にて TMEM147 は細胞質内にも細胞膜にも存在することが示されているほか，本研究でもフローサイトメトリーによって細胞膜に存在すること，TMEM147 の過剰発現によりその割合が増加することを確認していると回答した．更に抗 TMEM147 抗体の臨床応用における対象疾患と懸念される有害事象について質問があり，申請者は抗 TMEM147 抗体が炎症回路を抑制するため，炎症回路が活性化している幅広い疾患に応用できる可能性があると考えられる．また抗 TMEM147 抗体は，関節腔内投与で重篤な影響を及ぼす可能性は低いと思われるが，全身投与でどのような影響が出るかは不明である．ただし TMEM147 は発生段階において重要な役割を果たすという報告はあるが，成体においての機能報告がほぼないことから，成体における生理的な役割は低い可能性が考えられ，OA や RA のような成人に発症する疾患については全身投与の可能性も存在するかもしれない，と回答した．

最後に主査の渥美教授から，モデルマウスのクリニカルスコアが，軟骨細胞特異的炎症回路ノックアウトマウス，関節内 TMEM147 ノックダウンマウス，抗 TMEM147 抗体関節内投与マウス間で差がある理由について質問があり，申請者は軟骨細胞特異的炎症回路ノックアウトマウスでは軟骨細胞の炎症回路のみが抑制されているが，関節内 TMEM147 ノックダウンマウスでは軟骨細胞に加えて周囲の滑膜細胞等でも TMEM147 を介した炎症回路が抑制されている．一方で抗 TMEM147 抗体関節内投与マウスでは投与間隔や濃度の問題から TMEM147 を介する炎症回路の抑制は限定的なものであると考えられるため，クリニカルスコアがそれぞれのマウスで異なっていると考えられる，と回答した．更に RA モデルマウスにはいくつか種類があるが，本研究で用いたモデル以外の RA モデルマウスを用いる実験は予定しているかとの質問があり，申請者はコラーゲン誘導関節炎を用いた実験を予定していると回答した．

この論文は，OA 及び RA に共通する病態メカニズムとして，軟骨細胞に存在する炎症回路の重要性を示した点と，TMEM147 の機能を明らかにした点において高く評価され，今後の変性関節疾患における新たな治療戦略となりう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と判定した．