



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	オートファジーは滑膜線維芽細胞においてピメンチンのシトルリン化およびMHC class IIとの相互作用を促進する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	菅原, 恵理
Description	配架番号 : 2461
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13447号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74603
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Eri_Sugawara_review.pdf, 審査の要旨



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 菅原 恵理

	主査	教授	坂本 直哉
審査担当者	副査	教授	小林 弘一
	副査	教授	村上 正晃
	副査	教授	有川 二郎

学 位 論 文 題 名

オートファジーは滑膜線維芽細胞においてビメンチンのシトルリン化および
MHC class II との相互作用を促進する
(Autophagy Promotes Citrullination of Vimentin and Its Interaction with Major Histocompatibility
Complex class II in Synovial Fibroblasts)

関節リウマチ (RA)は滑膜の炎症性増殖を特徴とする自己免疫疾患である。本論文は RA の滑膜線維芽細胞における抗原提示能やオートファジーを介したシトルリン化に注目し、RA の疾患特異的自己抗体である抗シトルリン化ペプチド抗体 (ACPA)の産生における滑膜線維芽細胞の役割について検討した研究である。

本研究でははじめに IFN- γ 刺激を行い滑膜線維芽細胞の細胞表面における MHC class II や T 細胞活性化における共刺激分子の B7 ファミリーの発現を評価した。MHC class II、B7-H1、B7-DC は IFN- γ 刺激下で滑膜線維芽細胞表面に誘導され、B7-H3 は IFN- γ 刺激の有無にかかわらず滑膜線維芽細胞表面に発現していた。次に滑膜線維芽細胞における ACPA の対応抗原の存在を確認し、シトルリン化ビメンチンが ACPA の主要な対応抗原であることを確認した。次に飢餓刺激とプロテアソーム阻害により滑膜線維芽細胞においてオートファジーを誘導し、ビメンチンのシトルリン化に及ぼす影響を評価した。オートファジー誘導に伴いビメンチンのシトルリン化が促進されることを確認した。最後に IFN- γ 刺激下でオートファジーを誘導し MHC class II とシトルリン、ビメンチンの相互作用を評価した。IFN- γ 刺激下でのオートファジー誘導により、MHC class II とシトルリン、ビメンチンの相互作用が増強された。

審査にあたり副査の有川教授から、動物実験モデルでシトルリン化抗原が関節炎を起こすことが示されているのかと質問があり、申請者はこれまでに複数のモデルでシトルリン化抗原と関節炎の関係について報告されていると回答した。次に当研究で用いた滑膜線維芽細胞を採取した患者の疾患活動性や抗体プロファイル、治療などの患者背景についての質問があった。申請者は、当院における手術症例に限定されており、患者背景を完全に均一化することの難しさを回答した。有川教授からは動物実験モデルを用いて評価してはどうかと示唆があり、申請者は今後の研究課題としたいと回答した。副査の村上教授からは研究の前半ではオートファジー誘導のみを行っているが、後半では IFN- γ 刺激も同時に行っており細胞の刺激方法が統一されていないので、MHC class II の発現に及ぼす影響やオートファジーに及ぼす影響が評価できないと指摘があった。申請者は刺激方法を統一し今後解析したいと回答した。オートファジー誘導によりシトルリン化が亢進する機序について質問があり、申請者は Peptidylarginine deiminase (PAD)の活性化が予想されると回答した。併せて PAD 活性の評価は今後の研究課題であると回答した。滑膜のパニヌス形成部

位には樹状細胞も豊富に存在していることが予想されるため、滑膜線維芽細胞が RA の病態形成に関与している可能性が高く、樹状細胞も併せて検討するべきであると指摘があり、申請者は今後の検討課題としたいと回答した。副査の小林教授からは本研究では MHC class II とシトルリン化ビメンチンが近傍にあることは示されているが、直接相互作用していることは示せていないと指摘があった。PAD、MHC class II、ビメンチンにタグ付けし強制発現する系によりシトルリン化したビメンチンが MHC class II と結合していることが証明可能であると示唆があり、申請者は今後の検討課題としたいと回答した。主査の坂本教授からはまた、ビメンチン以外にシトルリン化を受けるタンパクがあるのか質問があり、申請者はフィブリノーゲンや α エノラーゼなどのタンパクがシトルリン化によって関節炎を起こすことが報告されていると回答した。シトルリン化抗原が関節炎を起こす機序について質問があり、申請者はシトルリン化されたタンパクが MHC class II と結合しやすいためであると回答した。坂本教授からはビメンチンにはアルギニン残基の個数やビメンチンのどの部位が MHC class II と結合しているのか質問があった。申請者は数十個であり、シトルリン化ビメンチンの MHC class II との結合部位に関しては今後の検討課題であると回答した。さらに、オートファジーによりビメンチンがシトルリン化された訳ではなく、オートファジーにより何らかの細胞内の反応が起こり、その結果としてビメンチンがシトルリン化されているのではないかと指摘があり、申請者は PAD の活性化が起こり、シトルリン化が亢進している可能性が高く、今後は PAD 活性についても検討したいと回答した。

この論文は RA の滑膜線維芽細胞においてオートファジーがシトルリン化ビメンチンと MHC class II の相互作用を促進する可能性を示し、オートファジーが抗シトルリン化ペプチド抗体産生に関与している可能性を示唆した。本研究の成果は RA の病態解明や治療の進展に寄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)の学位を受けるに十分な資格を有するものと判定した。