HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	自己免疫疾患の疾患関連遺伝子C8orf13についての機能解析［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	下山, 修平
Description	配架番号：2611
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14492号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81846
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shuhei_Shimoyama_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　下山　修平

主査　　教授　福原　崇介
審査担当者　副査　　教授　山田　雅文
副査　　教授　畠山　鎮次

学 位 論 文 題 名

自己免疫疾患の疾患関連遺伝子 C8orf13 についての機能解析
(A functional analysis of autoimmune disease-associated gene *C8orf13*)

本申請は自己免疫疾患、特に関節リウマチの病態発現における C8orf13 の関与を明らかにした論文である。既報でこの C8orf13 の発現量に関与する一塩基多型（SNP）が報告されていたが、関節リウマチの患者ではリスクアリルを高頻度で持っていることを明らかにしている。さらに、in vitro の実験系で、C8orf13 の発現を抑制することで TNFa 刺激時の IL6 の発現が抑制されることを示し、関節リウマチの病原性に関与する IL6 Amp を介して、病態発現に関与することが示唆している。メカニズムとしては、IL6 発現のパスウェイにある RIPK1 との結合を介して、C8orf13 は IL6 Amp を抑制していると示した。さらに、in vivo モデルとして、関節炎モデルマウスや皮膚炎モデルマウスで C8orf13 のノックダウンを行うことにより、病原性発現を強く抑制できることも示した。以上の結果から、C8orf13 が関節リウマチを含む自己免疫疾患で病態発現に関与することを明らかにしている。

審査にあたり、まず副査の山田教授から関節リウマチ患者の診断におけるリウマトイド因子のあり方に関する質問があり、申請者は正しい診断基準を的確に回答した。次に、「今回の SNP の関与は SLE でも有意差が出ているが、SLE に IL6 が関与しないことと整合性が合わないようだがどう説明するのか？」と質問があり、RIPK1 には細胞死を含めた他のパスウェイへの関与があり、そちらが関与していると考えていると適切に返答した。また、vivo でのノックダウンではモデル毎に siRNA と shRNA が使い分けられている理由に関して質問があり、申請者は病原性を評価するタイミングによって使い分けたと適切に回答した。副査の畠山先生からは、臨床検体の免疫染色における抗体の抗原特異生に関する質問があり、申請者は C8orf13 を強発現する細胞株から標本を作って陽性コントロールとして確認を行ったと適切に回答した。次に、細胞内での C8orf13 の局在に関して質問があり、申請者は「データベースと異なり、細胞質には局在するも、ミトコンドリアには局在しなかった」と回答した。また、「本当に、C8orf13 が本当に発現して、タンパク質として IL6 amp に関与していると言えるのか？もしかしたら、non-coding RNA として作用している可能性はないのか？」との質問に対し、申請者は「タンパク質を発現できない Stop コドンを入れたプラスミドを発現させた場合は、IL6 の発現に影響しなかったことから、やはり C8orf13

タンパク質が発現することによって病態発現に関与する可能性が高い」と回答した。次に「マウスモデルを用いているが、マウスでも C8orf13 および BLK の発現に関与する SNP が存在しているのか？」という質問に対し、「そもそも、C8orf13 と BLK は異なる染色体に発現しており、C8orf13 の発現に関与する SNP は存在しないことから、マウスでは C8orf13 の機能解析は可能であるが、SNP の意義はヒトサンプルでしか検討できない」と適切に回答した。最後に主査の福原教授から C8orf13 の結合分子は、複合体の様々な因子が示されているが、RIPK1 が直接結合する分子かどうかに関して質問があり、申請者は RIPK1 が直接結合分子である可能性はあるが、確定はできないことと、技術的に RIPK1 との結合実験が難しいということを適切に回答した。また、C8orf13 の変異体の発現により IL6 発現にどのような影響があるかに関する実験で、全く結合しない変異体の発現でも IL6 の発現を僅かに増強していることの説明を求めたところ、申請者は mRNA を発現させるだけで、わずかに免疫誘導が起こり、IL6 の発現が誘導されるということで適切に説明した。最後に、「C8orf13 を標的とした新規治療法開発の見込みはあるのか？臨床にどのような点で有用になる可能性があるか？」との質問に、申請者は「C8orf13 を標的とする分子標的薬はこれまでに存在する分子標的薬と作用が似ていることから、難しいと思われる。しかし、このタンパク質の発現に影響する SNP の解析をすることで、どの薬剤が最適かを決定するプレシジョンメディスンに繋がる可能性がある」と回答した。

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。