



Title	Wnt/ β -cateninシグナルが表皮角化細胞のヘミデスモソームを安定化する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	小住, 英之
Description	配架番号 : 2689
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14947号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85757
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	KOSUMI_Hideyuki_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 小住 英之

主査 教授 佐邊 壽孝
審査担当者 副査 教授 大場 雄介
副査 准教授 野田 航介

学 位 論 文 題 名

Wnt/ β -catenin シグナルが表皮角化細胞のヘミデスモソームを安定化する
(Wnt/ β -catenin signaling stabilizes hemidesmosome formation in keratinocytes)

本学位論文は、ヘミデスモソームに対する制御因子、及び、そのシグナル経路の一端を明らかにすることを目的とし、以下の結果を得た。

- ・ヘミデスモソーム構造制御に β カテニンが関係する Wnt シグナルの活性化が関与するが、このことは、正常皮膚角化細胞(Normal Human Epidermal Keratinocyte, NHEK)と HaCaT 細胞とで観察された。一方、HaCaT 細胞では本シグナル経路は恒常的に活性化していた。
- ・HaCaT 細胞において Wnt を阻害すると複数のヘミデスモソーム構成タンパク質が減少し、電子顕微鏡観察からもヘミデスモソーム構造の減少が見られた。
- ・表皮特異的 Wnt 不活性モデルである K14- Δ NLef1 マウス皮膚では基底膜のヘミデスモソーム構成分子が減少した。
- ・Atypical protein kinase C (aPKC) 阻害は Wnt 阻害に起因したミデスモソーム構造減少を抑制した。

このような知見に基づき、Wnt/ β カテニンシグナルは表皮水疱症(Epidermolysis Bullosa, EB)に対する治療対象として捉えることができるのではないか、というのが本学位論文の要旨であった。

審査会において、副査の野田准教授から EB 患者皮膚での Wnt シグナル活性について質問があり、申請者から、これまで当該報告はないとの回答があった。また、HaCaT 細胞での実験だけで、Wnt がヘミデスモソーム生成を制御していると結論づけて良いのかとの質問があり、やってはいないが他の細胞株においても同様の検証が可能ではあると回答された。Wnt 活性化によるヘミデスモソーム制御を臨床応用するためにどのように Wnt による発癌を回避するのかとの質問もあり、aPKC が Wnt と拮抗しながらヘミデスモソームを制御するので、aPKC に着目した治療法であれば Wnt 活性化による発癌を回避できるかもしれないと回答された。

副査の大場教授からは、Wnt 非活性である NHEK 細胞におけるヘミデスモソーム制御について質問があり、NHEK 細胞は株化細胞である HaCaT とは異なりある程度ヘテロな細胞集団であり、その Wnt 活性およびヘミデスモソームの局在についても一様でないといと推測される、従って、質問に対する実験は容易ではないかもしれないとの回答があった。また、 β カテニンの NHEK における細胞内局在について検討したかとの質問があり、未検討であるが、ケラチノサイトにおいて β カテニンは細胞骨格としての役割もあり、Wnt 活性ケラチノサイトの局在という点を検討するためには、活性化 β カテニンを観察する必要があると回答された。HaCaT 細胞において Wnt 阻害によるヘミデスモソーム減少に関し、

「HaCaT が Wnt 阻害によって正常角化細胞に近づいた結果、ヘミデスモソームが何らかの作用で減少した」もしくは「Wnt シグナルの不活性化そのものがヘミデスモソームを減少させた」のどちらが考えられるか質問があり、後者が *in vivo* でも再現されたと回答された。また、PKC と関与する Wnt シグナルは β カテニン経路ではなく Ca 依存経路であるはずだが、その矛盾についてはどう考えているか質問があり、大腸癌培養細胞では両者が交差し、 β カテニンの活性化が Ca イオン非依存性に PKC を活性化することが知られており、ケラチノサイトにおいてもそういった経路がある可能性および、 β カテニンの下流、細胞外で作用している可能性があるとの回答があった。学位論文であるのでヘミデスモソームを HD と略さない方が良いのではないかと、との提言がありそのように修正する方針とした。

主査の佐邊教授より「ヘミデスモソームがデスモソームと似ていることから命名された」旨の記載があるが、デスモソームを半割したような構造物だったから、という理由がより適当である、との提言があり、そのように訂正することとした。また、もし研究の目的が EB を治すということなのであれば、プレクチンや COL17 に遺伝子変異がある限り、Wnt による調節では本疾患を治療することはできないのではないかと、質問があり EB において遺伝子変異のあるタンパク質以外のヘミデスモソーム構成タンパク質の増加によって症状が緩和されるかどうかについては報告がないので、この点を踏まえ、Wnt シグナル経路からの治療戦略の可能性を検討する余地はあると回答された。また aPKC が活性化する刺激としてカルシウム流入や細胞内脂質代謝が考えられるため、その点から aPKC を調節する方針で臨床応用を考えるべきではないか？という提言があり、この点は非常に重要であり、今後の課題としたいとの回答があった。

この論文は令和 4 年 1 月 25 日に開催された審査会において評価され、今後の EB 治療研究における進展が期待される。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単位取得なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。