

授与番号	甲第 1865 号
------	-----------

論文内容の要旨

TGF- β promotes retinal pigment epithelial cell migration via MRTF-pathway

(TGF- β は MRTF の経路を介して網膜色素上皮細胞の遊走を促進する)

(福田一央, 橋爪公平, 木澤純也, 三部篤, 黒坂大次郎)

(Journal of Iwate Medical Association 74 巻, 4 号, 令和 4 年 10 月掲載)

I. 研究目的

増殖性硝子体網膜症および加齢黄斑変性症では, 一部の網膜色素上皮細胞 retinal pigment epithelium (RPE) 細胞が遊走と上皮間葉転換 epithelial mesenchymal transition (EMT) が視力低下に影響する. トランスフォーミング増殖因子 transforming growth factor (TGF) - β は, RPE 細胞における遊走と EMT を誘導する主要な因子である. ミオカルディン関連転写因子 myocardin-related transcription factor (MRTF) -A は, 乳腺細胞癌などさまざまな細胞において EMT を調整する役割を担うだけでなく, gelsolin などのアクチンフィラメントの調整に関わるタンパク質を発現することで遊走にも影響している. 我々の教室と他施設の報告では RPE 細胞において TGF- β による MRTF-A の核内移行や α -smooth muscle actin (α -SMA) と I 型コラーゲン発現が MRTF-A 阻害剤により抑制されることを報告した. しかし RPE 細胞における TGF- β による遊走促進に MRTF が関係するかどうかは知られていない.

本研究では MRTF-A 阻害剤である CCG-203971 の TGF- β 2 による RPE の遊走促進と gelsolin 発現促進への効果を検討した.

II. 研究対象ならび方法

ヒト網膜色素上皮細胞株 (ARPE-19) を TGF- β 2 と CCG-203971 で処理した. ARPE-19 細胞の遊走を wound-healing test で検討し, 細胞増殖を bromodeoxyuridine (BrdU) を用いて検討した. gelsolin mRNA の発現をリアルタイム PCR を用いて, gelsolin タンパクの発現をウエスタンブロットを用いて検討した.

Ⅲ. 研究結果

TGF- β 2 は ARPE-19 の遊走を促進し、この効果は CCG-203971 により減少した。また TGF- β 2 は ARPE-19 における gelsolin mRNA とタンパク質の発現を亢進させ、この発現亢進は CCG-203971 によって減少した。

Ⅳ. 結 語

これらの結果より TGF- β 2 の ARPE-19 細胞の遊走促進に MRTF-A の経路が関連している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 菅井 有 (病理診断学講座)

副査 教授 人見 次郎 (解剖学講座：人体発生学分野)

副査 講師 木澤 純也 (眼科学講座)

増殖性網膜疾患は網膜色素上皮 RPE 細胞の遊走と上皮間葉転換 EMT が重要で、TGF- β が遊走と EMT を促進することが知られている。癌細胞などにおいては MRTF が遊走と EMT に関連していることが知られており、既報では RPE 細胞の TGF- β による EMT の促進が MRTF 阻害剤により抑制されることが報告されている。しかしながら、RPE 細胞において TGF- β による遊走の促進に MRTF がどのように影響するかは知れていない。本研究本論文では RPE 細胞の TGF- β による遊走促進と、遊走に関わるタンパク質であるゲルゾリン発現促進が MRTF 阻害剤 CCG-203971 でのどのような影響を受けるか検討した。Wound-healing test を用いて遊走の評価をし、BrdU で増殖能の影響、ゲルゾリン発現をリアルタイム PCR とウエスタンブロットを用いて検討した。結果、TGF- β による RPE 細胞の遊走促進を CCG-203971 は抑制した。TGF- β と CCG-203971 による RPE 細胞の増殖への影響はなかった。ゲルゾリンの発現は TGF- β により促進し、CCG-203971 により抑制された。

本論文は増殖性網膜疾患の予防や治療法の開発に役立つ有益な知見を示した研究と言える。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

EMT の基本的事項、増殖性網膜疾患における EMT の役割などについて試問した。また原因として RPE 細胞以外に関わる細胞があるのか、また CCG-203971 を用いる際の臨床での課題について質疑を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると判断した。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことも確認した。

参考論文

- 1) 症例から学ぶ 白内障手術の実践レクチャー(術中編17) 小児白内障(解説)(黒坂大次郎, 他1名と共著) 臨床眼科, 73巻, 6号(2019): p710-713.
- 2) Topical administration of a ROCK inhibitor prevents anterior subcapsular cataract induced by UV-B irradiation(ROCK 阻害剤の局所投与により UV-B 照射により誘発される前嚢下白内障を予防する)(今泉利康, 他5名と共著) Experimental Eye Research, 181巻, 4巻(2019): p145-149.
- 3) Myocardin-related transcription factor A (MRTF-A) regulates TGF- β 2-induced type I collagen production in human lens epithelial cells(ミオカルジン関連転写因子 A (MRTF-A) のヒト水晶体上皮細胞における TGF- β 2 の誘導による I 型コラーゲン産生の調節)(奥野孟, 他8名と共著) 岩手医学雑誌, 70巻, 3号(2018): p81-90.
- 4) 白内障・屈折手術の論点 小瞳孔に対する手術戦略 瞳孔拡張器不使用の立場から(解説)(黒坂大次郎, 他1名と共著) IOL & RS, 32巻, 2号(2018): p277-281.