

論文審査の要旨(甲)

申請者領域・分野 氏名	機能再建・再生科学領域 運動機能病態修復学教育研究分野 氏名 中村 譲
指導教授氏名	石橋 恭之
論文審査担当者	主 査 津田 英一 副 査 伊東 健 副 査 上野 伸哉
<p>(論文題目)</p> <p>Possible involvement of DExD/H box helicase 60 in synovial inflammation of rheumatoid arthritis: role of Toll-like receptor 3 signaling (関節リウマチの滑膜炎における DExD/H box ヘリカーゼ 60 関与の可能性 : Toll-like receptor 3 シグナルの役割)</p>	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>関節リウマチ (RA) は慢性の自己免疫疾患であり、自然免疫への制御機構の異常が発症に関与するとされている。RA 滑膜炎では Toll-like receptor (TLR) を介した経路が発症メカニズムの 1 つであり、RA 患者由来線維芽細胞様滑膜細胞 (RFLS) を用いた研究により TLR3 の発現増加とそれによるリンパ球の活性化が報告されている。培養 RFLS においては TLR3 経路の活性化が interferon (IFN) -β を誘導し、IFN 誘導性遺伝子 (ISG) である C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) の発現が上昇すると報告されている。DExD/H box ヘリカーゼ 60 (DDX60) は DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) モチーフを持つ RNA ヘリカーゼの 1 種であり、全身性自己免疫疾患で強発現している。TLR3 を介した経路に関与すると考えられているが、RA 発症における DDX60 の役割は明らかではない。本論文の研究では RA 滑膜炎における DDX60 の発現とその分子機構での役割について解析が行われた。</p> <p>研究ではまず、変形性膝関節症 (OA) および RA のため人工膝関節置換術が行われた各 4 例の患者から膝関節滑膜を採取し、免疫組織化学により DDX60 の発現を評価した。その結果、DDX60 は OA、RA の滑膜組織において滑膜細胞、線維芽細胞、内皮細胞、形質細胞で陽性であり、その免疫反応性は OA 全症例に比較し RA 全症例で強発現していた。次に培養 RFLS に TLR3 リガンドであるポリイノシン酸・ポリシチジル酸 (poly IC) を添加して、DDX60 と mRNA の発現を western blotting (WB) と定量的 reverse transcription (qRT) -PCR で評価した。さらに I 型 IFN 中和抗体で処理した RFLS に poly IC 添加培養を行い DDX60 の発現を WB で評価した。続いて DDX60 をノックダウンした後に poly IC を添加し、CXCL10 の発現を qRT-PCR、ELISA で評価した。最後に DDX60 の細胞内局在を蛍光免疫染色で評価した。その結果、poly IC 添加により DDX60 および mRNA の発現は濃度および時間依存性に増加した。さらに I 型 IFN 中和抗体の前処理は poly IC によって誘導される DDX60 の発現増加を阻害しなかった。また DDX60 のノックダウンによって poly IC により誘導される CXCL10 および mRNA 発現は低下した。蛍光免疫染色により DDX60 は培養 RFLS の細胞質に存在していた。</p> <p>本論文は、TLR3 シグナルによって細胞質内で DDX60 発現が増加し I 型 IFN を介さずに CXCL10 発現を増強させる経路を証明し、RA 滑膜炎の新たな発症メカニズムを示した。その新規性および新たな治療薬開発の足掛かりとなり得る発展性から学位授与に値する。</p>	
公表雑誌等名	Mol Biol Rep. 2024 Jan 18;51(1):131.