

論文内容要旨

しめい 氏名	つあお めいわん 曹 美婉
学位論文題名	Mechanisms of Impaired Neutrophil Migration by MicroRNAs in Myelodysplastic Syndromes
<p>無効造血を特徴とする骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndromes: MDS) の患者死因の約半分は、好中球減少と機能異常に基づく感染症である。しかし、血球機能異常のメカニズムは明らかではない。</p> <p>申請者らは、MDS 患者の好中球で miR-34a と miR-155 が過剰発現していることを見出した (Shikama et al, PLOS One, 2016)。この miRNA の過剰発現が好中球機能に及ぼす影響とそのメカニズムを明らかにすることを目的に、本研究を行った。</p> <p>好中球様に分化させたヒト白血病細胞株 HL60 (dHL60) に miR-34a、miR-155 を過剰発現させると、N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) と interleukin-8 (IL-8) に向かう遊走は有意に抑制された。同時に fMLP 及び IL-8 刺激時の Rho family member Cdc42 と Rac1 の活性化も抑制されたが、Cdc42 蛋白の発現量に変化はなかった。データベース microRNA.org によると、Cdc42 を特異的に活性化する guanine nucleotide exchange factor (GEF) のうち、DOCK8 は miR-34a、FGD4 は miR-155 の標的であると推定された。実際、miR-34a 過剰発現により DOCK8 が、miR-155 過剰発現により FGD4 が減少した。DOCK8 または FGD4 の siRNA を dHL60 に導入すると、dHL60 の fMLP および IL-8 刺激による遊走はほぼ完全に抑制された。MiR-155 の標的と推定される Rac1 は、miR-155 過剰発現により減少した。Rac1 siRNA の導入は、dHL60 の fMLP 及び IL-8 への遊走を有意に抑制した。以上より、miR-34a は DOCK8 の減少を、miR-155 は FGD4 及び Rac1 の減少を介して、遊走能を抑制することが示唆された。</p> <p>MDS 患者の好中球において、DOCK8 の蛋白レベルは、miR-34a 発現量と負の相関を示し ($r=0.445$, $p=0.043$)、fMLP ($r=0.642$, $p=0.001$) 及び IL-8 への遊走能 ($r=0.778$, $p=0.003$) と正の相関を示した。FGD4 と Rac1 も、fMLP (FGD4: $r=0.686$, $p=0.001$, Rac1: $r=0.436$, $p=0.048$) 及び IL-8 への遊走能との間に (FGD4: $r=0.659$, $p=0.028$, Rac1: $r=0.606$, $p=0.048$) 正の相関を示した。</p> <p>本研究は、MDS 患者好中球では二つの GEF と Rac1 が減少しており、遊走能低下に寄与していることを初めて明らかにした。</p>	

学位論文審査結果報告書

平成29年1月11日

大学院医学研究科長様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

「審査結果要旨」

氏名：Meiwan Cao

学位論文題名：Mechanisms of impaired neutrophil migration by microRNAs in myelodysplastic syndromes

骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) は無効造血と白血病への移行を特徴とする難治血液がんの一種である。MDS 患者の主な死因の一つに感染症が挙げられる。白血球減少が感染症を併発する大きな原因のひとつであるが、MDS 患者では好中球機能が低下していることも知られている。しかしながら、その機序については明らかにされていない。

microRNA(miRNA)は 21-25 塩基の 1 本鎖 RNA で標的遺伝子の 3'UTR を認識して、標的 RNA を不安定化、あるいは翻訳抑制を行うことで蛋白質の産生を抑制する。以前、申請者らの研究グループは、MDS 患者から採取した好中球では、正常人の好中球と比較して miRNA-34a と miRNA-155 の発現量が増加していることを報告した。今回の実験では、これら miRNA の好中球の遊走能制御への関与について検討を行った。その結果、miRNA-34a は guanine nucleotide exchange factor の DOCK8 を、miR-155 は FGD4 と Rho ファミリー蛋白に属する Rac1 を発現抑制することで好中球の遊走を阻害していることを明らかにした。

好中球の寿命は数時間しかなく、ヒトから採取した好中球を用いて遺伝子の機能解析を行うことは困難を極める。また好中球由来の細胞株は存在しないが、HL-60 急性骨髄性白血病細胞に cyclicAMP を投与して分化誘導した好中球を研究に用いたアイデアは卓越している。

miRNA は発生、細胞増殖、アポトーシス、代謝など重要な生命活動に関与する遺伝子発現を制御する RNA であるが、今回初めて好中球の機能を制御することを示した点で学術的価値は高い。この論文は、免疫学分野において国際的に有名な Journal of Immunology から高い評価を受け、つい先ごろ受理された点からも学位論文授与に値する。