

氏名	的場 亮
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博 甲第5662号
学位授与の日付	平成30年3月23日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Suppressive effect of AMP-activated protein kinase on the epithelial-mesenchymal transition in retinal pigment epithelial cells (網膜色素上皮細胞の上皮間葉転換に対するAMP活性化プロテインキナーゼの抑制効果)
論文審査委員	教授 大内淑代 教授 大橋俊孝 准教授 寶田剛志

学位論文内容の要旨

網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium; RPE) 細胞の上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) は増殖硝子体網膜症の主要な病態である。今回、AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase; AMPK) が RPE 細胞の EMT に及ぼす影響を検討した。培養ヒト RPE 株 ARPE-19 細胞を腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor; TNF) - α 及び形質転換増殖因子 (transforming growth factor; TGF) - β_2 で刺激し、細胞が重層化し細胞集塊を形成する現象を誘導し、これを *in vitro* EMT モデルとした。AMPK 活性化剤である 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR) は、細胞集塊形成を有意に抑制した。AICAR の阻害剤である dipyrindamole 及び 5'-amino-5'-deoxyadenosin は、有意に AICAR の抑制効果を打ち消した。AICAR は TNF- α /TGF- β_2 共刺激による E-cadherin の発現低下を回復させ、fibronectin 及び α -smooth muscle actin の発現上昇を抑制した。更に、matrix metalloproteinase-2 及び 9、interleukin-6、血管内皮増殖因子の発現上昇は AICAR により抑制された。以上より、AICAR は、少なくとも部分的には AMPK 活性化を介して、RPE の EMT を抑制すると考えられるため、AICAR の増殖硝子体網膜症治療薬としての応用が期待される。

論文審査結果の要旨

増殖硝子体網膜症では、網膜色素上皮(RPE)細胞の上皮間葉転換(EMT)が主な病態であるが、未だ RPE の EMT を抑制する薬剤がない。腫瘍壊死因子(TNF α)及び形質転換増殖因子(TGF β)で、ヒト RPE 細胞株 ARPE-19 を刺激すると、細胞が重層化、集塊を形成し、EMT が促進される実験系が報告されている。

本研究では、ARPE-19 *in vitro* EMT モデルを用いて、AMP 活性化タンパク質キナーゼ (AMPK) の EMT 抑制効果を検討した。AMPK 活性化剤である 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR)は細胞集塊形成を有意に抑制し、AICAR 阻害剤はその効果を阻害した。AICAR は、ARPE-19 における上皮マーカーの発現低下を妨げ、fibronectin、筋線維芽細胞マーカー、各種疾患憎悪因子の発現上昇を抑制することが示された。

委員からは、採用した *in vitro* EMT モデルが EMT よりむしろ細胞増殖促進を捉えているのではないかと、上皮マーカーとして N-cadherin の発現はどうであったか等の質疑があった。本研究者はこれまでの文献報告と実際に得られた実験結果とについて言及し的確に回答した。

本研究は、AICAR の活性化 ARPE-19 に対する抑制効果とその分子機構について重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。