

学位授与番号：甲 1049 号

氏 名：中川 良

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 29 年 11 月 22 日

学位論文名：

**miR-425 regulates inflammatory cytokine production in CD4+ T cells via N-Ras upregulation in primary biliary cholangitis.**

（miR-425 は N-Ras を介し原発性胆汁性胆管炎の CD4+T 細胞の炎症性サイトカイン産生を制御する）

学位論文審査委員長：教授 坪田昭人

学位論文審査委員：教授 吉田清嗣 教授 黒坂大太郎

# 論文要旨

氏名	中川 良	指導教授名	猿田 雅之
----	------	-------	-------

## 主論文

**miR-425 regulates inflammatory cytokine production in CD4+ T cells via N-Ras upregulation in primary biliary cholangitis**

(miR-425 は N-Ras を介し原発性胆汁性胆管炎の CD4+T 細胞の炎症性サイトカイン産生を制御する)

Ryo Nakagawa, Ryosuke Muroyama, Chisato Saeki, Kaku Goto, Yoshimi Kaise, Kazuhiko Koike, Masanori Nakano, Yasuo Matsubara, Keiko Takano, Sayaka Ito, Masayuki Saruta, Naoya Kato, Mikio Zeniya,

Journal of Hepatology.2017 Jun;66: 1223-1230

## 要旨

### 【緒言】

原発性胆汁性胆管炎 (PBC) は原因不明の自己免疫性肝疾患である。未だその治療標的は明らかとされていない。PBC では CD4+T 細胞がその免疫異常に関わることが知られている。そのため私は PBC 患者の CD4+T 細胞の microRNA (miRNA) と mRNA 発現を解析し、その病態形成に関わる分子を明らかにするとともに新規治療分子の同定を試みた。

### 【方法】

PBC 症例 14 例と健常コントロール 10 例の CD4+T 細胞内の miRNA と mRNA を microarray と定量的 RT-PCR を用い gene set enrichment analysis 手法により統合的に解析した。次いで miRNA の機能解析にはレポーターアッセイや miRNA 過剰発現細胞を用いた。

### 【結果】

miRNA と mRNA の統合解析により PBC の CD4+T 細胞で発現低下を示す 4 つの miRNA (miR-181a、-181b、-374b、-425) が T cell receptor (TCR) signaling pathway の活性化に関わることを明らかとした。さらに、4 つの miRNA は TCR signaling pathway 中の N-Ras を標的とすることが示された。そして、*in vitro* 実験により TCR signaling pathway では miR-425 が N-Ras の発現制御を介し IL-2 や IFN- $\gamma$  などの炎症性サイトカイン産生を制御することを明らかにした。

### 【考察】

PBC の CD4+T 細胞では 4 つの低下を示す miRNA は TCR signaling pathway を抑制的に制御し、その低下により TCR signaling pathway が活性化しやすい環境が作られることが明らかとなった。特に miR-425 は N-Ras を介し PBC の炎症性サイトカイン産生を制御することが示された。そのため減少した miR-425 を正常化することや、高発現する N-Ras を抑制することで PBC の新たな治療戦略となると考える。

## 学位論文審査結果の要旨

中川 良氏の学位申請論文は主論文 1 編 1 冊よりなり、その表題は「**miR-425 regulates inflammatory cytokine production in CD4+ T cells via N-Ras upregulation in primary biliary cholangitis** (miR-425 は N-Ras を介して原発性胆汁性胆管炎の CD4+T 細胞の炎症性サイトカイン産生を制御する)」で、**Journal of Hepatology** 誌 (2017 年) に発表されている。指導教授は内科学講座 消化器・肝臓内科分野の猿田雅之教授である。

平成 29 年 11 月 7 日に黒坂大太郎、吉田清嗣両審査委員の出席のもと、公開学位審査を開催し、中川氏による研究概要の発表に続いて口頭審査を実施した。

席上、以下の質問が為された。

- UDCA の治療反応性の背景はどのようになっているのか？
- 健常人コントロールのリクルート法とその倫理性
- Jurkat cell はモデルとして適切なのか？
- miR と mRNA の specific な結合を視認化できるのか？ 本当に specific なのか？
- miR は翻訳調整であって、mRNA 発現の抑制はおかしいのではないのか？
- miR の特異的発現抑制は可能なのか？
- 治療への方向性として miR-425 なのか N-Ras なのか？
- PBC の病期と N-Ras の関連性は？
- PBC は高頻度に Sjögren 症候群を合併するが、他の合併症による影響は？
- 末梢血の T 細胞がどれだけ肝組織内での病態を反映できているのか？

等々、細部にわたり数多くの質問がなされたが、それぞれに対して明確かつ的確に回答がなされた。本論文の特筆すべき点は、

- PBC の病態形成に中心的役割を担う CD4+T 細胞に注目し、その miRNA 及び mRNA 発現 profile を網羅的かつ統合的に初めて解析したこと。
- このように炎症性疾患において T 細胞 subset の miRNA-mRNA 発現 profile を網羅的かつ統合的解析した報告はないこと。
- 解析の結果、4 つの miRNA の低発現が TCR signaling pathway に深く関与していることを見だし、PBC の末梢血 CD4+T 細胞に N-Ras が高発現していることを初めて明らかにしたこと。
- これにより PBC のみならず他の炎症性疾患の病態解明や免疫分子制御への新たな治療へつながる可能性が示唆されたこと、

が挙げられる。なお、本論文は米国消化器病学会の **clinical edge** に注目すべき論文として紹介された。

学位審査委員会は慎重審議の結果、本論文を学位申請論文として十分価値があるものと認めた次第である。なお、Thesis の数か所に誤字・脱字が散見され、後日修正・再提出がなされたことを確認している。