

論文審査の結果の要旨

Human exosomal placenta-associated *miR-517a-3p* modulates the expression of *PRKG1* mRNA in Jurkat cells

エクソソーム中のヒト胎盤特異的 *miR-517a-3p* は Jurkat 細胞において *PRKG1* の発現を調節している

日本医科大学 女性生殖発達病態学分野

大学院生 神戸沙織

Biology of Reproduction 第91巻 第5号 掲載

(平成26年11月1日発行)

細胞から放出される小胞であるエクソソームは、細胞間コミュニケーションの新たな媒体として注目を集めている。エクソソームは蛋白質や核酸を含み、隣接する細胞や遠隔に存在する細胞に取り込まれ、取り込んだ細胞の生物学的機能に影響を与えていると考えられている。ヒト胎盤は、19染色体上でクラスターを形成しているマイクロRNAが特異的に発現しており、妊娠期間中、エクソソームを介して母体血中に放出されている。しかし、この胎盤特異的マイクロRNAが母体にどのような影響を及ぼしているのかは不明のままであった。申請者はこうした知見に基づき、まず培養細胞を用いた実験系でマイクロRNAを含むエクソソームのレシピエント細胞への取り込みと遺伝子発現調節の検討を行い、さらに、妊婦末梢血免疫細胞を用いて胎盤特異的マイクロRNAの取り込みが起こっているのか症例解析を行った。栄養膜細胞モデルであるBeWo細胞由来のエクソソームを、免疫細胞モデルであるJurkat細胞に取り込ませ、内在性遺伝子の発現が調節可能であるか明らかにしようとした着想、さらには、培養細胞での結果を実際の臨床サンプルを用いて検証しようとした綿密な研究計画は、申請者が医学研究を進める上での基礎となる学識を備えていること、ならびに高度に専門的な業務に従事するための研究企画力を有することを示すものであり、十分に評価される。

申請者は、培養細胞からの超遠心分離法を用いたエクソソームの分離、電子顕微鏡やウェスタンブロットなどを用いたエクソソームの特徴付けを行うとともに、マイクロアレイ解析とバイオインフォマティクス解析を組み合わせ *miR-517a-3p* の標的遺伝子候補の抽出、ルシフェラーゼレポーターアッセイ法を用いた標的遺伝子の同定を行い、培養細胞を用いてエクソソームの取り込みと遺伝子調節の機能解析を行った。その結果、BeWo細胞由来の *miR-517a-3p* を含むエクソソームが、Jurkat細胞に取り込まれ、I型cGMP依存性プロテインキナーゼをコードしている *PRKG1* 遺伝子の発現を調節することを明らかにした。さらに、妊婦末梢血 natural killer (NK) 細胞の解析を進め、*miR-517a-3p* はNK細胞に取り込まれており、分娩前後の *miR-517a-3p* と *PRKG1* の発現が逆相関していることを示し、エクソソーム由来のmiRNAを介した胎盤-母体免疫細胞コミュニケーションの可能性をはじめ明らかにした。この結果は、申請者が高度の実験手技を獲得していることのみならず、マイクロRNA、エクソソーム研究を遂行する優れた力量を持つことを示している。

二次審査では、エクソソームのレシピエント細胞への取り込み機序、母体NK細胞における胎盤特異的マイクロRNAの *PRKG1* 以外の標的遺伝子の検索と同定の可能性、胎盤特異的マイクロRNAが母体NK細胞を介して妊娠維持または妊娠終結に与える影響、エクソソームの周産期医療への応用などについて質疑がなされ、申請者は、それらに対する的確な回答を示し、発展的議論を行った。

本研究は、胎盤由来のマイクロRNAがエクソソームを介して母体に与える影響とその機序の解明につながる新知見を提供するとともに、胎盤特異的マイクロRNAの臨床応用研究への道を開く貴重なものであり、申請者が自立した研究者としての資質を備えていることを示している。

以上より、本論文は学位(医学博士)論文として十分に価値あるものと認定した。