

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	細胞外小胞ミグラソームを捕捉するペプチド界面の開発と小胞による炎症反応の誘導
Title(English)	
著者(和文)	齊藤彰吾
Author(English)	Shogo Saito
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12419号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:大河内 美奈,多湖 輝興,芹澤 武,松本 秀行,田中 祐圭
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12419号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	齊藤彰吾	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	大河内 美奈	教授	田中 祐圭	准教授
	審査員	多湖 輝興	教授		
		芹澤 武	教授		
松本 秀行		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「細胞外小胞ミグラソームを捕捉するペプチド界面の開発と小胞による炎症反応の誘導」と題し、全 5 章で構成されている。

第 1 章「緒論」では、細胞が周囲の環境に分泌する細胞外小胞に関する既往の知見について述べ、本研究の目的を示した。特に、細胞遊走後に基板上に形成される細胞外小胞であるミグラソームについて、その特徴や機能、使用する培養基板の影響について概説した。また、本研究で着目する炎症反応に関する知見をまとめ、炎症性サイトカインが細胞間を伝搬する機構における細胞外小胞の寄与について、最近の知見をまとめた。以上より、細胞外小胞ミグラソームの機能解析に関する研究の意義を示し、本研究の目的を明らかにした。

第 2 章「細胞膜に強く相互作用するペプチド界面の構築」では、ミグラソームの機能解析を視野に入れ、細胞膜結合性ペプチドを用いた細胞培養基板の作製について述べた。先行研究より得られた細胞膜と強く相互作用するペプチド配列を用いて基板上に修飾し、この基板上での細胞生存率および接着能を評価した結果、本ペプチド修飾基板を細胞培養に利用できることを示した。さらに、細胞膜と強く結合する特性を利用して、ペプチド基板上で細胞培養後に浸透圧ショックによる細胞膜破砕を行うことで、細胞質側の細胞底面膜を露出できることを示した。本手法は、細胞質側から刺激分子を作用させる新しいドラッグスクリーニング技術として利用できる他、細胞の培養および機能解析などに展開できると示唆された。

第 3 章「ペプチド界面を用いたミグラソームの観察および捕捉評価」では、細胞膜結合性ペプチドを用いたミグラソームのイメージングおよび分画法の開発について検討した。まず、細胞膜結合性ペプチド上で観察された脂質球について、ミグラソームの特徴と合致していることを確認した。また、このペプチド基板上での細胞培養によりミグラソームが形成される様子を観察し、ペプチド基板上でミグラソームを補足できることを示した。次に、ペプチド基板上での細胞剥離によるミグラソームの分画について検討した。具体的には、細胞膜結合性ペプチドとインテグリンリガンドとなるペプチドを混合したペプチド溶液を用いて基板上に修飾し、細胞を播種して基板上で培養した。その後、キレート剤を滴下すると細胞のみが剥離され、ミグラソームは基板上に残存することを示した。本手法によるミグラソーム分画は、従来の遠心分離法よりも短時間で簡便に行え、ミグラソームに損傷を与える可能性も少ないことから、機能解析に有用であることが示唆された。

第 4 章「IL-6 アンプによる炎症誘導におけるミグラソームの寄与」では、前章で構築された混合ペプチド修飾基板を用いたミグラソームの分画法を利用し、局所の炎症誘導機構の一つである IL-6 アンプにおけるミグラソームの機能について解析した。IL-6 アンプを誘導した細胞から形成されるミグラソームには、非誘導細胞と比較して多くの IL-6 が含まれることを免疫染色および遺伝子発現解析により確認した。次に、ペプチド修飾基板を用いてミグラソームを分画した後に、細胞を新たに播種することで、残存したミグラソームを細胞が遊走する際に取り込む様子が観察された。そこで、IL-6 アンプを誘導した細胞が分泌したミグラソームを取り込んだ細胞（非誘導細胞）について、IL-6 発現量を RT-qPCR で解析した。その結果、IL-6 アンプが誘導された細胞が分泌したミグラソームを取り込んだ細胞の IL-6 発現量が有意に上昇し、ミグラソームを介した局所的な炎症誘導が可能であると示唆された。

第 5 章「総括および今後の展望」では、本研究で得られた結果をまとめ、その意義を明らかにし、今後の展望について述べた。

以上を要するに、本論文はペプチド修飾基板によるミグラソームの捕捉および分画法を構築し、その手法を利用して IL-6 アンプによる炎症誘導におけるミグラソームの寄与を明らかにした。細胞遊走により形成される細胞外小胞であるミグラソームの機能解析に寄与する基盤技術を構築し、その炎症反応における寄与を発見したことから、工学のみならず医療分野においても貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として十分に値するものと認められる。