

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Improvement of Primary Human Hepatocyte Cell Attachment through EPAC2 Activation and Unraveling WFS1 Selective Degradation
著者(和文)	HELENAGrace Aprilia
Author(English)	Grace Aprilia Helena
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第331号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:糸 昭苑,白木 伸明,田口 英樹,田川 陽一,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第331号, Conferred date:2025/3/26, 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

(博士課程)

## 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	GRACE APRILIA HELENA	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	条 昭苑	教授	三重 正和	准教授
	審査員	白木 申明	准教授		
		田口 英樹	教授		
田川 陽一		准教授			

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Improvement of Primary Human Hepatocyte Cell Attachment through EPAC2 Activation and Unraveling WFS1 Selective Degradation (EPAC2 の活性化を介した初代ヒト肝細胞接着の改善と WFS1 の選択的分解機構の解明)」と題し、英語で書かれ四章より構成されている。

第一章「Introduction」では、「初代ヒト肝細胞接着の改善」と「WFS1 の選択的分解機構の解明」という 2 つの異なる研究の背景、実験方法、結果の概要について述べている。

第二章「Improvement of Primary Human Hepatocyte Cell Attachment」では、創薬開発における初代ヒト肝細胞 (PHH) の重要性、凍結保存後の細胞接着性の低下の問題点の存在についての背景説明、細胞接着の重要性、cAMP および EPAC シグナル伝達についての説明が述べられている。続いて、凍結肝細胞の播種後の細胞接着の度合いの判定のための機械学習による自動細胞分類を構築したことについて述べている。また、凍結 PHH 接着の改善のための条件検討を行い、細胞播種密度が重要であり、初期の細胞接着には BSA (牛血清アルブミン) 不含培地が良いが、長期培養には BSA の存在が重要であること、細胞接着は cAMP シグナルの活性化、特に EPAC2 活性化が重要であり、これらの条件下で凍結 PHH を培養すると薬物作用の評価に重要な微細胆管様構造が確認されることを述べている。

第三章「Unraveling WFS1 Selective Degradation」では WFS1 選択的分解に関与する分子の探索についての研究が述べられている。まず、Wolfram 症候群 (WS) とその原因タンパク質である WFS1 タンパク質、タンパク質分解全般と近接標識の手法説明、先行研究では WFS1 が 2 つの異なる細胞株 (ハムスター腎臓由来の HEK293T 細胞とマウス膵臓β細胞由来の MIN6 細胞) で異なるタンパク質安定性を示したことについての研究背景を述べている。続いて、この研究で使用された実験方法の詳細: 細胞培養、プラスミドの構築、TurboID と PLA (近接ライゲーションアッセイ) による近接標識について述べている。そして、MIN6 および HEK293T における WFS1 相互作用タンパク質を特定するため、得られたビオチン化 LC-MS/MS データセットについての in-silico 解析結果を述べている。統計解析ボルケーノプロット、遺伝子オントロジー、KEGG パスウェイ解析により、MIN6 に特異的に発現されている WFS1 タンパク質と相互作用するタンパク質の候補を一次、二次、三次候補に分けて述べている。PLA の結果では、WFS1 と一次候補である Sec61a1 および Fkbp2 と WFS1 タンパク質との直接的な相互作用が確認され、Sec61a1 および Fkbp2 がどのように WFS1 タンパク質と相互作用するかについての分子機序の考察と仮説を述べている。

第四章「Conclusion」では上記の 2 つの研究の結論とその展望について述べている。「ヒト肝細胞接着の改善」研究では、cAMP と EPAC2 の活性化が PHH 接着を増進させることを述べ、これを利用した PHH の汎用性を向上の手段となる可能性を考察している。「WFS1 選択的分解の解明」研究では、WFS1 タンパク質と相互作用するタンパク質の候補として Sec61a1 と Fkbp2 が特定されることを述べ、膵臓β細胞特異的な WFS1 タンパク質の分解機序の解明へつながり、WF の治療薬開発の鍵となる可能性を考察している。

以上を要するに、本論文は初代肝細胞の接着機構を解明し、WFS1 の選択的分解に関与する候補分子を突き止めたものであり、さまざまな場面で凍結肝細胞の接着性改善のための新しい手段を提示し、Wolfram 症候群の原因タンパク質である WFS1 と相互作用するタンパク質として Sec61a1 と Fkbp2 が WFS1 分解における役割を見出し、創薬のターゲットの可能性を提示したものである。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東京科学大学リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。