

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	TEJASHWI SHRESTHA
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Nicotine-induced upregulation of miR-132-5p enhances cell survival in PC12 cells by targeting the anti-apoptotic protein Bcl-2 (ニコチンにより誘導される miR-132-5p は抗アポトーシス分子 Bcl-2 を標的とすることにより PC12 細胞の生存率を向上させる)			
論文審査担当者			
主査	教授	酒井 規雄	印
審査委員	教授	今泉 和則	
審査委員	教授	岡本 泰昌	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>アルツハイマー病の制圧は、多くの国に共通する課題である。現行のアルツハイマー病治療法は、残存した神経間のシグナル伝達増強を主な標的としている一方、その効果は十分とは言えず、より根本的な治療薬の開発が求められている。これまでに、ニコチン性アセチルコリン受容体の刺激が、nerve growth factor (NGF) 除去によって誘発される PC12 細胞のアポトーシスを抑制することから、同受容体刺激による神経保護効果の可能性が示唆されている。近年 21-25 塩基程度の短い non-coding RNA である micro RNA (miRNA) が細胞応答の様々な局面で機能していることが明らかにされている。本研究では、神経細胞のモデル細胞として PC12 細胞を用い、ニコチン刺激により誘導される miRNA を同定し、その神経保護効果について検討された。</p> <p>まずニコチン (100<math>\mu</math>M) もしくは NGF (50ng/ml) により刺激した PC12 細胞において、1.5 倍以上発現量が増加する miRNA をアレイ解析により同定した。両条件下で共通して増加する miRNA を 12 種同定し、そのうち中枢神経系において発現が高い miR-132-5p を解析対象とした。miR-132-5p の発現がニコチン刺激により増加することを RT-qPCR により確認した後、次の実験を行った。血清飢餓による PC12 細胞死に対するニコチン投与の効果、WST-8 法で評価し、cAMP response element binding protein (CREB) のリン酸化、アポトーシス関連分子である Bcl-2、Bax、切断型カスパーゼ 3 の発現量をウェスタンブロットにより定量した。次に miR-132-5p の mimic (100pM) あるいは inhibitor (30nM) を PC12 細胞にトランスフェクトし、同様に細胞生存率、アポトーシス関連分子の発現量を調べた。</p> <p>結果は次のごとくまとめられる。ニコチン投与により CREB のリン酸化は 2 倍以上、Bcl-2 の発現は 1.4 倍増加し、血清飢餓時の細胞生存率は 35%から 54%に上昇した。Mimic を投与した場合は細胞生存率が 38%から 70%まで改善し、Bcl-2 の発現は 3.9 倍に増加した。Inhibitor 投与により生存率は 25%まで低下したが Bcl-2 の発現に変化はみられなかった。Bax の発現は mimic、inhibitor いずれの場合でも変化しなかったが、切断型カスパーゼ 3 の発現は mimic 投与にて 33%減少し、inhibitor 投与では 2.5 倍に増加した。</p> <p>以上の結果から、miR-132-5p がニコチン性アセチルコリン受容体の下流で、アポトーシス関連分子の発現調節を介して神経保護効果に関与することが明らかとなった。本論文は、miR-132-5p がニコチンの神経保護効果に関わることを初めて明らかにし、得られた知見は miR-132-5p を標的とした神経疾患治療法開発の礎となり得るものである。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。</p>			