

区分	甲	論文提出者	三宅 佑宜
論文題目	SNAI2 is induced by transforming growth factor- β 1 but is not essential for epithelial-mesenchymal transition in human keratinocyte HaCaT cells		
研究目的			
<p>上皮間葉転換（EMT）は、上皮系細胞が間葉系細胞の特徴を獲得する現象である。重層扁平表皮の創傷治癒では、タイプ2のEMTが発生し、転写因子SNAI2の関与が示唆されている。本研究では、重層扁平上皮由来細胞のEMTにおける転写因子SNAI2の役割を明らかにすることを目的として行った。</p>			
材料および方法			
<p>TGF-β1に応答してEMTを起こすことが知られているヒトケラチノサイト細胞株HaCaT細胞を用いた。EMTによる細胞形態の変化やマーカーのタンパク質発現の変化を顕微鏡観察、ファロイジン染色さらにウエスタンブロッティングにより評価した。また組換えレトロウイルスを利用し、SNAI2を恒常的にノックダウンおよび過剰発現するHaCaT細胞を作製した。それらの細胞についても同様にEMT表現型の有無を検討した。さらにDNAマイクロアレイおよびバイオインフォマティクス解析を行いTGF-β1誘導性EMTとSNAI2依存性に発現変動する遺伝子を比較検討した。</p>			
結果および考察			
<p>①TGF-β1処理によりHaCaT細胞が敷石状から細長い紡錘形への形態変化を起こすことを位相差顕微鏡および蛍光免疫染色で検出した。さらに上皮や間葉のマーカータンパク質発現変化によりEMT誘導を確認した。EMTに関与する転写因子のタンパク質発現の変化を解析しSNAI2の有意な上昇を認め、さらに蛍光免疫染色で核局在が確認された。②SNAI2過剰発現細胞で、同様に細胞形態やマーカー発現を解析したがEMT様の変化は確認できなかった。③SNAI2ノックダウン細胞にTGF-β1処理を行ったところ、SNAI2の発現は上昇しないがEMTが誘導されることが確認された。④TGF-β1処理とSNAI2過剰発現による遺伝子発現の影響についてマイクロアレイ解析を行ったところ、TGF-β1処理では507個の遺伝子の発現減少と544個の遺伝子の発現上昇、SNAI2過剰発現では133個の遺伝子の発現減少と90個の遺伝子の発現上昇を認めた。それらの発現変動遺伝子の中で共通するのは4個の遺伝子だけであった。⑤バイオインフォマティクス分析を行い、生物学的プロセス、KEGGパスウェイ、細胞成分および分子機能を比較した。TGF-β1処理では細胞接着や細胞周期などに有意な変化を認めたが、SNAI2過剰発現では有意な変化が検出されなかった。⑥TGF-β1誘導性EMTにおいて発現変動する遺伝子群から、EMT誘導を制御する可能性のある転写因子を新たに見出した。</p>			
結論			
<p>EMTには様々な転写因子の発現の変化が報告されており、その中の1つである転写因子SNAI2単独ではHaCaT細胞のEMTを誘導できないことが明らかになった。バイオインフォマティクス分析によりTGF-β1誘導性EMTを制御する転写因子の候補を抽出し、複数の転写因子が協動的に制御している可能性を新たに見出した。</p>			