



Title	KLF4 prevents epithelial to mesenchymal transition in human corneal epithelial cells via endogenous TGF- β 2 suppression
Author(s)	藤本, 聡子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76206
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤本 聡子	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 西田 幸二
	副 査 大阪大学教授 蘭池 章
	副 査 大阪大学教授 山本 浩文
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本研究は、角膜上皮細胞における転写因子KLF4の役割を上皮間葉転換の制御という観点から解明したものである。(上皮間葉転換とは、上皮細胞がその細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い、遊走、浸潤能を得ることで間葉系細胞へと変化することを指す。) KLF4は、角膜創傷治癒過程で重要であるTGF-β経路の阻害を介して上皮間葉転換を抑制していることや細胞形態の維持に必須であること、上皮性の維持に貢献していることなどを明らかにした。これらの知見は、将来、KLF4が上皮間葉転換を抑制することで、視力維持に不可欠な角膜の透明性維持という特異性に寄与している可能性や、TGF-β2の分泌を抑えることで視力障害に繋がる角膜実質線維性瘢痕の形成を抑制できる可能性を示唆する重要なものである。</p> <p>上記のような理由から本研究は学位に値するものと認める。</p>	

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	藤本 聡子
論文題名 Title	KLF4 prevents epithelial to mesenchymal transition in human corneal epithelial cells via endogenous TGF- β 2 suppression (KLF4は角膜上皮細胞において内在性TGF- β 2分泌抑制を介して上皮間葉転換を抑制する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>角膜上皮は数層の扁平上皮細胞から成り、角膜の最表層を構成する。Krüppel-like Factor 4 (KLF4)は山中4因子の一つであるが、非角膜上皮細胞から角膜上皮細胞へのダイレトリプログラミング因子の一つでもあり、角膜上皮に重要な転写因子である。一方KLF4は、上皮間葉転換 (EMT) に関わる因子としても知られており、健全な角膜上皮においてはその恒常性の維持のため、EMTは強固に抑制されていると考えられる。本研究の目的は、角膜上皮細胞において、KLF4が角膜上皮性の維持やEMTを制御しているかにつき解析し、そのメカニズムとして角膜創傷治癒過程で重要であるTGF-βシグナル経路の阻害によるものかにつき検討することである。</p> <p>〔方法(Methods)〕</p> <p>研究用輸入角膜から採取した角膜輪部上皮細胞を初代培養した後、siRNAsを用いてKLF4発現のノックダウンを行い、7日後に回収し、形態学的解析、遺伝子発現解析、蛋白質発現解析を行った。また、角膜上皮細胞にレンチウイルスを用いてKLF4を強制発現させ、72時間後に回収、遺伝子発現解析、蛋白質発現解析を行った。さらに、72時間培養後、栄養飢餓状態で2時間培養した強制発現細胞にTGF-β2 (10 ng/ml)を添加し、30分後、4時間後に回収、蛋白質発現解析を行った。</p> <p>〔成績(Results)〕</p> <p>KLF4ノックダウン下の細胞では線維芽細胞様への形態学的変化がみられ、細胞形状解析では円形細胞出現率の低下や細胞面積の増加が確認された。遺伝子発現解析や蛋白質発現解析では、KLF4ノックダウン下では上皮マーカー(KRT12, KRT14)の発現量低下と間葉マーカー(VIM, FN1, CDH2, SLUG)の発現量上昇、CDH1の蛋白質発現量低下と局在変化がみられ、KLF4ノックダウンによりEMTが促進していることが示唆された。また、TGF-β関連マーカー(TGFB1, TGFB2, TGFBR1, TGFBR2)遺伝子の発現上昇や、細胞培養上清におけるTGF-β2濃度の上昇、SMAD2/3の核内移行がKLF4ノックダウン下でみられ、KLF4ノックダウンによるEMT促進はTGF-βシグナル経路を介していることが示唆された。KLF4強制発現下の細胞では、遺伝子発現解析や蛋白質発現解析において上皮マーカー(KRT 14, CDH1)の発現量上昇を認め、KLF4が角膜上皮細胞の上皮性維持に貢献していることが示唆された。さらに、TGF-β2添加によるSMAD2/3の核内移行やSMAD2のリン酸化が、KLF4強制発現細胞では抑制されており、KLF4がTGF-βシグナル経路においてSMAD2のリン酸化を抑制していることが示された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>KLF4 は角膜上皮細胞において、TGF-βシグナル経路を介してEMTを抑制していた。KLF4はTGF-β2分泌を抑えることで角膜実質における線維性癒痕の形成を抑制できる可能性がある。</p>	