

学位授与番号：乙3070号

氏名：皆川俊介

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成25年11月27日

学位論文名：

IPFにおける細胞老化亢進と TGF- β によって誘導されるヒト気道上皮細胞老化における SIRT6 の抑制的役割

主論文名：

Accelerated epithelial cell senescence in IPF and the inhibitory role of SIRT6 in TGF- β -induced senescence of human bronchial epithelial cells.

(IPFにおける細胞老化亢進と TGF- β によって誘導されるヒト気道上皮細胞老化における SIRT6 の抑制的役割)

学位審査委員長：岡部正隆教授

学位審査委員：吉田清嗣教授、宇都宮一典教授

論文要旨

論文提出者名	皆川 俊介	指導教授名	桑野 和善
主論文題名			
“Accelerated epithelial cell senescence in IPF and the inhibitory role of SIRT6 in TGF- β -induced senescence of human bronchial epithelial cells.” (IPFにおける細胞老化亢進とTGF- β によって誘導されるヒト気道上皮細胞老化におけるSIRT6の抑制的役割)			
誌名			
American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology 2011; 300(3): 391-401.			
要旨			
<p>気腔内に起こる気道上皮細胞による再上皮化など化生上皮細胞の増生は、線維化の進展に伴い認められるIPFの特徴的な病理学的所見であり、病態形成に関わっていると考えられる。また近年の研究では上皮細胞の老化亢進がIPFのリスクファクターとなる可能性が示唆されており、これは化生上皮細胞における細胞老化の亢進が病態に関与する可能性を示唆する。ClassIIIの脱アセチル化酵素であるSirtuin(SIRT) familyの中でSIRT6は、抗老化作用を有する可能性がある。本研究ではIPF肺の気道上皮細胞の増生における、細胞老化とSIRT6の関係について検討した。Senescence-associated β-gal (SA-βgal) 染色及びp21の免疫組織染色を用いて細胞老化を評価した。また細胞の老化のIn vitroモデルとして初代ヒト気道上皮細胞(Human bronchial epithelial cells:HBEC)を用い、Transforming growth factor (TGF)-βで刺激しSA-βgal染色、p21発現で細胞老化を検討し、またSIRT6およびインターロイキン(IL)-1βの発現を評価した。また筋線維芽細胞への分化はtypeIコラーゲンの発現で評価した。結果、IPF肺組織の線維化進展部位や構造改変した気腔を覆うように存在する気道上皮細胞など化生上皮細胞において、老化のマーカーであるSA-βgal染色、p21発現及びSIRT6の発現が亢進していた。またTGF-βはHBECにおいてp21の発現を亢進させるとともにSIRT6の発現も亢進させたが、内因性SIRT6の発現亢進は細胞老化を抑制するには不十分であった。しかしSIRT6の強制発現は、p21の発現抑制を介してTGF-β誘導性HBECの細胞老化を有意に抑制した。またTGF-βによって誘導された老化HBECではIL-1βの分泌が亢進しており、IL-1βは線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を誘導した。本研究において化生上皮細胞の細胞老化亢進は、上皮細胞-線維化細胞間の相互作用を介してIPFの病態形成に関わっており、さらにSIRT6が細胞老化制御により病態抑制作用を有する可能性を証明した。本研究によりSIRT6は、将来的なIPF治療法開発のための有望な標的分子となりうる事が示唆された。</p>			

論文審査の結果の要旨

皆川俊介氏の学位申請論文は、主論文1編からなり、主論文は「Accelerated epithelial cell senescence in IPF and the inhibitory role of SIRT6 in TGF- β -induced senescence of human bronchial epithelial cells」という題名の英文論文で、2011年にAmerican Journal of Physiology Lung cellular and Molecular Physiology (IF=3.523)に発表されております。皆川氏はこの研究を米国留学前に行っております。以下、主論文の要旨と審査委員会の審査結果をご報告いたします。

特発性肺線維症（IPF）は、7つに分類される特発性間質性肺炎の中で、発症後生存期間中央値が3～4年と最も予後不良な疾患です。特発性肺線維症（IPF）の特徴的な病理学的所見として、線維化の進展に伴い気腔内に起こる化生上皮細胞の増生が認められ、これが病態形成に関わっていると考えられています。また近年の研究では上皮細胞の老化亢進がIPFのリスクファクターとなる可能性が示唆されており、これは化生上皮細胞における細胞老化の亢進が病態に関与する可能性を示唆しています。そこで、皆川氏らは、IPF肺の気道上皮細胞の増生における、細胞老化とSIRT6の関係について検討しました。SIRT6は、Class IIIの脱アセチル化酵素であるSirtuin (SIRT) familyの一つで抗老化作用をもつとされています。老化のマーカーSenescence-associated β -gal (SA- β gal) 染色及びp21の免疫組織染色を用いてIPF肺の細胞老化を評価したところ、線維化進展部位や構造改変した気腔を覆う化生上皮細胞においてこれらの発現が亢進していました。一方、同時に同じ細胞で抗老化作用をSIRT6の発現が亢進していました。皆川氏らはこの病態を、ヒト気道上皮細胞の初代培養細胞をTransforming growth factor (TGF)- β で刺激した細胞老化のIn vitroモデルを用いて解析を続けました。その結果、TGF- β で刺激したヒト気道上皮細胞はp21の発現を亢進させるとともに抗老化因子SIRT6の発現も亢進させましたが、内因性SIRT6の発現亢進では細胞老化を抑制するには不十分でした。SIRT6をTGF- β で刺激したヒト気道上皮細胞に強制発現させると、p21の発現抑制とともに細胞老化を有意に抑制しました。また、TGF- β によって誘導された老化気道上皮細胞ではIL-1 β の分泌が亢進しており、このIL-1 β が線維芽細胞にtype I コラー

ゲンと α SMAの発現を誘導し、筋線維芽細胞への分化を誘導していることを見いだしました。。

以上の実験データから、皆川氏らは、化生上皮細胞の細胞老化亢進は、上皮細胞-線維芽細胞間の相互作用を介したIPFの病態形成に関わっていること、SIRT6が細胞老化制御により病態抑制作用を有する可能性を示し、SIRT6が将来的なIPF治療法開発のための有望な標的分子となりうると結論しました。

去る平成25年11月13日、吉田清嗣教授、宇都宮一典教授のご臨席のもと、公開学位審査委員会を開催し、皆川俊介氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を行いました。

席上、

- ・病態を知りたいのにIPFではなく正常の肺上皮を使うのでいいのか？
- ・TGF-beta刺激でp53の発現が増加しないのはなぜか？
- ・どんな因子がp21を転写しているのか？
- ・SIRT6でIL-1betaが抑制されるメカニズムはなにか？
- ・なぜSIRT6に注目したのか？
- ・TGF-betaによる線維化はCOPDでも生じるのに、なぜCOPDはSIRT1でIPFはSIRT6なのか？
- ・p21のユビキチン化を確認しているのか？
- ・通常の老化が早く起こっているのか？
- ・IPF患者の他の臓器でも線維化が生じるのか？
- ・経過から逆算して、病理学的変化はいつ頃から生じていると試算されるか？
- ・SIRT6のノックアウトマウスではIPF様の病変は生じるのか？

など多くの質問がありましたが、皆川氏は的確に回答いたしました。

その後、吉田清嗣教授、宇都宮一典教授と慎重に審議した結果、本論文は学位申請論文として十分価値があるものと認めた次第です。