

学位授与番号：甲 962 号

氏 名：高坂 直樹

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 3 月 12 日

学位論文名：

SIRT6 による IGF シグナルを介したオートファジー制御とヒト気道上皮細胞老化

主論文名：

Autophagy Induction by SIRT6 through Attenuation of Insulin-like Growth Factor Signaling is Involved in the Regulation of Human Bronchial Epithelial Cell Senescence.

(SIRT6 による IGF シグナルを介したオートファジー制御とヒト気道上皮細胞老化)

学位審査委員長：教授 大橋十也

学位審査委員：教授 岡野ジェイムス洋尚 教授 吉村道博

学 位 論 文 要 旨

論文提出者名	高坂 直樹	指導教授名 桑野和善
<p data-bbox="236 443 486 481">主論文題名</p> <p data-bbox="236 492 1415 622">“Autophagy Induction by SIRT6 through Attenuation of Insulin-like Growth Factor Signaling is Involved in the Regulation of Human Bronchial Epithelial Cell Senescence.”</p> <p data-bbox="236 633 1415 716">(SIRT6 による IGF シグナルを介したオートファジー制御とヒト気道上皮細胞老化)</p> <p data-bbox="236 790 901 828">誌名 The Journal of Immunology , in press</p> <p data-bbox="236 884 311 922">要旨</p> <p data-bbox="236 934 1415 1254">喫煙による細胞老化の亢進は COPD 病態に関連する。SIRT6 は IGF-Akt シグナル抑制を介して抗老化作用を示す HDAC である。オートファジーは細胞内傷害蛋白を除去することで、細胞老化を制御する。またオートファジーは IGF-Akt-mTOR シグナルにより抑制される。代表的な sirtuin である SIRT1 はオートファジーを活性化するが、SIRT6 によるオートファジーの制御に関しては報告がなされていない。それゆえ我々は喫煙誘導性細胞老化の規定に SIRT6 によるオートファジー制御が関与する可能性について検討した。</p> <p data-bbox="236 1265 1415 1395">SIRT6 発現はヒト気道上皮細胞(HBEC)への cDNA ないし siRNA 遺伝子導入によって調整した。細胞老化は senescence associated β-galactosidase (SA-β-gal)染色およびウエスタンブロットでの p21 発現増強によって評価した。</p> <p data-bbox="236 1406 1415 1780">COPD 患者由来の肺ホモジネートで SIRT6 発現は低下し、SIRT6 の発現量は一秒率と間で正の相関を示した。SIRT6 強制発現は喫煙誘導性細胞老化を抑制し、SIRT6 ノックダウンおよびHDAC活性を有さない変異型 SIRT6 (H133Y)の強制発現は逆に細胞老化を亢進させた。野生型 SIRT6 強制発現は IGF-Akt-mTOR シグナル伝達系の抑制を介して、オートファジー活性を誘導した。一方 SIRT6 ノックダウンおよびHDAC活性を有さない変異型 SIRT6 (H133Y)の強制発現は逆にオートファジーを抑制した。野生型 SIRT6 強制発現による抗老化作用は、ATG5 および LC3B ノックダウンによるオートファジー阻害により抑制された。</p> <p data-bbox="236 1792 1415 1874">以上の検討結果から、SIRT6 は IGF-Akt-mTOR シグナル抑制を介したオートファジー活性により喫煙誘導性気道上皮細胞老化を制御する可能性が示唆された。</p>		

論文審査の結果の要旨

高坂直樹氏の学位申請論文は主論文1編、主論文のタイトルは「Autophagy Induction by SIRT6 through Attenuation of Insulin-like Growth Factor Signaling is Involved in the Regulation of Human Bronchial Epithelial Cell Senescence」、日本語では「SIRT6によるIGFシグナルを介したオートファジー制御とヒト気道上皮細胞老化」と題され、現時点でThe Journal of Immunology誌にin pressである。同誌のインパクトファクターは2012年で5.52である。以下、学位申請論文の要旨と審査委員会における審査結果を記載する。喫煙による細胞老化の亢進はCOPD病態に関連する。SIRT6はIGF-Aktシグナル抑制を介して抗老化作用を示すHDACである。オートファジーは細胞内傷害蛋白を除去することで、細胞老化を制御する。またオートファジーはIGF-Akt-mTORシグナルにより抑制される。代表的なsirtuinであるSIRT1はオートファジーを活性化するが、SIRT6によるオートファジーの制御に関しては報告がなされていない。それゆえ高坂氏らは喫煙誘導性細胞老化の規定にSIRT6によるオートファジー制御が関与する可能性について検討した。

SIRT6発現はヒト気道上皮細胞(HBEC)へのcDNAないしsiRNA遺伝子導入によって調整した。細胞老化はsenescence associated β -galactosidase (SA- β -gal)染色およびウエスタンブロットでのp21発現増強によって評価した。

COPD患者由来の肺ホモジネートでSIRT6発現は低下し、SIRT6の発現量は一秒率と間で正の相関を示した。SIRT6強制発現は喫煙誘導性細胞老化を抑制し、SIRT6ノックダウンおよびHDAC活性を有さない変異型SIRT6(H133Y)の強制発現は逆に細胞老化を亢進させた。野生型SIRT6強制発現はIGF-Akt-mTORシグナル伝達系の抑制を介して、オートファジー活性を誘導した。一方SIRT6ノックダウンおよびHDAC活性を有さない変異型SIRT6(H133Y)の強制発現は逆にオートファジーを抑制した。野生型SIRT6強制発現による抗老化作用は、ATG5およびLC3Bノックダウンによるオートファジー阻害により抑制された。

以上の検討結果から、高坂氏らはSIRT6はIGF-Akt-mTORシグナル抑制を介したオートファジー活性により喫煙誘導性気道上皮細胞老化を制御する可能性が示唆されたと結論した。

平成26年3月5日、岡野ジェイムス洋尚、吉村道博両審査委員出席のもとに公開学位審査会を開催し、高坂直樹氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

(1) HDAC活性のない変異SIRT6を発現させるとp21の発現が上昇し老化が促進しているがそのメカニズムは何か (2) COPD患者でSIRT6が低下するメカニズムは何か (3) 今回発表されたSIRT6のオートファジーや細胞の老化に対する影響はSIRT1でも起きるのか (4) SIRT6がIGF-Akt-mTORシグナル抑制するメカニズムは何か (5) 今回使用したCOPD患者のサンプルは男性由来か女性由来か (6) 肺胞上皮細胞以外の細胞でも同様の現象が起きるのか (7) SIRT6と発がんの関係はないのか (8) たばこ煙抽出液はSIRT6

を低下させるが、実際に低下させている成分は何か（9）たばこ煙抽出液は細胞の老化を促進させるがテロメア長は測定したか(10)COPD 患者肺ではユビキチン化蛋白は溜まっているのか

これらの質問に対して、高坂直樹氏は適切に回答し、有用な議論がなされた。

その後、岡野、吉村両教授と慎重に審議した結果、以前よりの同教室の COPD とオートファジーの関連という研究テーマを一步進める価値ある論文であり、学位を授与するに十分な価値があると認めた次第である。