

審査の結果の要旨

氏名 齋藤 美奈子

本研究は、特発性肺線維症 (IPF) の病態を解明するために、肺上皮細胞特異的活性型 mTOR マウスを用いて、肺上皮細胞における mTOR 経路の役割を直接的に解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 肺上皮特異的 mTOR 活性型変異マウス肺はコントロールマウスと比較して病理学的解析や肺生理学的解析では明らかなフェノタイプの違いを認めなかったが、全肺ホモジエネートから抽出した mRNA 発現量は、コントロールマウスと比較して、タイトジャンクションを構成するタンパクである ZO-1 と、上皮間葉転換 (EMT) に抑制的に作用する Caveolin-1 (Cav-1) の発現が有意に低下していた。
2. 肺胞上皮癌細胞株である A549 細胞及び初代ヒト肺胞上皮細胞においても、活性型 mTOR ベクターのトランスフェクションにより、コントロールと比較して ZO-1 及び Cav-1 の発現低下を蛍光免疫染色で確認し、さらに活性型 mTOR 過剰発現 A549 細胞では、EMT を誘導する TGF β 1 刺激により、コントロールと比較してより EMT を促進することが示された。
3. 肺上皮特異的な mTOR 活性化が肺線維症の病態に及ぼす影響について、ブレオマイシン誘導肺線維症モデルマウスを用いて検証したところ、肺上皮特異的活性型 mTOR マウスは、ブレオマイシン刺激により線維化の増悪を有意に認めた。肺上皮細胞における mTOR 活性化により ZO-1 及び Cav-1 の発現が低下し、ブレオマイシンによる強い上皮傷害が起こることで、肺胞上皮細胞の異常修復が進み、再上皮化が機能せず、EMT が促進し線維化の増悪をきたしたと考えられた。
4. マウスの II 型肺胞上皮細胞を単離し、RNA シークエンス解析による網羅的発現解析を行ったところ、Angiopoietin-like 4 (ANGPTL4) が肺上皮特異的活性型 mTOR マウスで大きく発現が亢進していることが示された。
5. A549 細胞及び初代ヒト肺胞上皮細胞において、ANGPTL4 過剰発現ベクターをトランスフェクションすると、コントロールと比較して ZO-1 及び Cav-1 の発現低下を蛍光免疫染色で確認し、初代ヒト肺胞上皮細胞において ANGPTL4 ノックダウンにより ZO-1 の有意な上昇及び、Cav-1 の上昇傾向を認めたことから、ANGPTL4 の新たな機能として、ZO-1 及び Cav-1 の発現調節に関与している可能性が示された。さらに、ANGPTL4 過剰発現 A549 細胞は EMT を促進することも示された。

以上、本論文は肺上皮特異的活性型 mTOR マウスの解析により、肺上皮細胞における

mTOR の活性化が ANGPTL4 の発現増加を誘導し、ZO-1 及び Cav-1 の発現低下をきたすことで、肺胞上皮のタイトジャンクションの脆弱化及び、EMT 促進に関与し、肺線維症を増悪させることが示唆された。mTOR 経路下流に位置する ANGPTL4 が IPF 治療における新規ターゲットである可能性が考えられ、IPF の病態及び治療の解明に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。