

審査の結果の要旨

氏名 榎田 広佑

本研究は、気管支喘息における気道リモデリングに重要な役割を担う気道平滑筋細胞と periostin 分子に着目し、Th2 型サイトカインである IL-13 による気道平滑筋細胞からの periostin 産生およびその機序を検討し、下記の結果を得ている。

1. 気道平滑筋細胞において IL-13 刺激による periostin mRNA 発現やタンパク産生について、定量的 RT-PCR, ELISA を用いて評価し、気道平滑筋細胞から periostin mRNA 発現、タンパク産生が誘導されることが示された。
2. Dexamethasone を使用し、ステロイドが気道平滑筋細胞における periostin 産生に与える影響を評価したところ、dexamethasone の投与により、periostin タンパク産生が抑制されることが示された。
3. 気道平滑筋細胞での IL-13 刺激による periostin 産生の細胞内シグナリングを検討した。IL-13 によるシグナル伝達は、IL-13 受容体 $\alpha 1$ を介して行われるため、受容体の発現を western blot で検討した。Western blot にて気道平滑筋細胞において IL-13 受容体 $\alpha 1$ の発現が示された。
4. IL-13 により活性化される JAK/STAT6 経路、ERK 1/2 経路、PI3K/Akt 経路の periostin 産生への関与を検討した。JAK/STAT6 経路の関与について、STAT6 リン酸化阻害薬および STAT6 を標的とした siRNA を用いて評価した。STAT6 のリン酸化を阻害あるいはノックダウンすることで、periostin 産生が抑制されることを確認した。次に ERK 1/2 経路の関与について、MEK 阻害薬を用いて評価した。MEK 阻害により control と同程度まで periostin 産生が抑制されることを確認した。最後に PI3K/Akt 経路の関与について、PI3K 阻害薬を用いて評価した。PI3K 阻害により periostin 産生が control と同程度まで抑制されることを確認した。以上より、periostin 産生の細胞内シグナリングには JAK/STAT6 経路、ERK 1/2 経路、PI3K/Akt 経路が関与していることが示された。
5. 上記に挙げた経路以外にも periostin 産生に関わる経路が存在する可能性を考慮し、IL-13 刺激により活性化される遺伝子および pathway を探索するため、次世代シーケンサーによる網羅的解析を行った。IL-13 刺激後 0h, 12h, 24h, 48h の RNA を抽出し、解析

した。RNA シークエンスデータの解析により 13031 個の発現変動遺伝子がマッピングされた。control と比較し 12 時間後、24 時間後、48 時間後の発現変動遺伝子の分布を MA プロットで明らかにした。Pathway 解析を行い、IL-13 刺激により活性化される経路として、先に検討した MAPK pathway や PI3K/Akt pathway 経路にかかわる遺伝子発現が活性化していることが確認するとともに、TGF-beta signaling pathway も関与している可能性が示された。

以上、本論文は気道平滑筋細胞から periostin が産生されることを明らかにし、さらに、IL-13 刺激により periostin が JAK/STAT6 経路、ERK 1/2 経路、PI3K/Akt 経路より産生されることを示した。本研究は、気道平滑筋細胞も periostin 産生能を有することを新たに示した研究であり、今後の気道リモデリングの病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。