

35. 間質性肺炎の発症・進展を左右する遺伝子の解明と応用

北川 雅敏

浜松医科大学 医学部 分子生物学講座

Key words : 間質性肺炎, YB-1, p16, サイクリン D1

緒言

間質性肺炎は、肺の間質組織の炎症、線維化が起こる疾患の総称であるが、そのうち特発性肺線維症（IPF）を含む特発性間質性肺炎は、予後不良で効果的治療法に乏しい疾患で、未だ完全な原因究明がなされていない。IPFは肺胞上皮障害、線維芽細胞の増殖と進行性の線維化を伴う。我々は肺における細胞増殖、組織線維化、上皮間葉転換（EMT）の制御機構に注目し、細胞増殖に関与する遺伝子の解析を行った。特に、転写因子 YB-1 は線維化の主因となる EMT の指標の一つである α SMA (α -smooth muscle actin) の発現制御に関わっているという報告があり、我々は、YB-1 の細胞増殖における機能とそれに関与する標的遺伝子を解析した。

方法および結果

1. YB-1 による *p16* 遺伝子の転写抑制

マウス胎児由来線維芽細胞（MEF）に対し siRNA を用いて YB-1 をノックダウンしたところ、細胞増殖の抑制が観察され、細胞周期抑制因子である CDK 阻害タンパク質 p16^{ink4A}（以下 p16）の mRNA および p16 タンパク質の発現亢進が見られることを見いだした¹⁾（図 1）。さらに YB-1 抗体を用いた ChIP（chromatin-immunoprecipitation）アッセイにより、*p16* 遺伝子のプロモーター上に内因性 YB-1 が結合することを見いだした。

2. YB-1 による サイクリン *D1* 遺伝子の転写促進

複数の培養肺癌細胞（A549、H1299 等）に対し siRNA を用いて YB-1 をノックダウンしたところ、細胞増殖の抑制と G1 期停止傾向が観察され、正の細胞周期調節因子であるサイクリン D1 の mRNA およびタンパク質の発現が抑制されることを見いだした²⁾（図 1）。さらにサイクリン *D1* のプロモーターをルシフェラーゼに繋げたレポーター遺伝子を用いて YB-1 の過剰発現とノックダウンの効果を解析したところ、YB-1 の過剰発現でサイクリン *D1* のプロモーター活性が上昇し、ノックダウンで低下した。また、YB-1 抗体を用いた ChIP アッセイにより、サイクリン *D1* 遺伝子のプロモーター上に内因性 YB-1 が結合することを見いだした。YB-1 を siRNA でノックダウンするとバンドが消失したことから、特異的であることが示唆された。加えて、YB-1 の発現とサイクリン D1 の発現は正の相関があることが肺癌患者の検体の解析により明らかになった。

3. サイクリン *D1* 遺伝子の新たな制御因子の探索

サイクリン D1 の発現制御に関する未報告の制御因子を探索したところ、ある因子がサイクリン D1 の mRNA およびタンパク質の発現に関与していることを見だし、現在詳細を解析している。

考察

以上より転写因子 YB-1 は、細胞周期抑制因子 p16 の発現抑制¹⁾と細胞周期の正の調節因子サイクリン D1 の発現促進²⁾に関与していることが判明した。今後は YB-1 結合因子を解析し、p16 の発現抑制を実行するコリプレッサー、サイクリン D1 の発現促進に関与しているコアクチベーターを明らかにする必要がある。その後、ヒストン修飾との相関を解析し、YB-1 による双方向性の転写制御機構を明らかにする必要がある。また、肺線維化と YB-1/p16/サイクリン

D1 経路の関係を明らかにする為に、マウスプレオマイシンモデル等の間質性肺炎モデルでの YB-1/p16/サイクリン D1 各遺伝子の発現状態と EMT、線維化との相関を解析する必要がある。組織線維化の主因となる EMT 誘導性 myofibroblast 増加の指標である α SMA の発現制御に YB-1 が TGF- β と協調して関与している可能性が示唆され (図 1)、p16 の発現抑制とサイクリン D1 の発現促進による線維芽細胞の増殖との関係が興味深い。

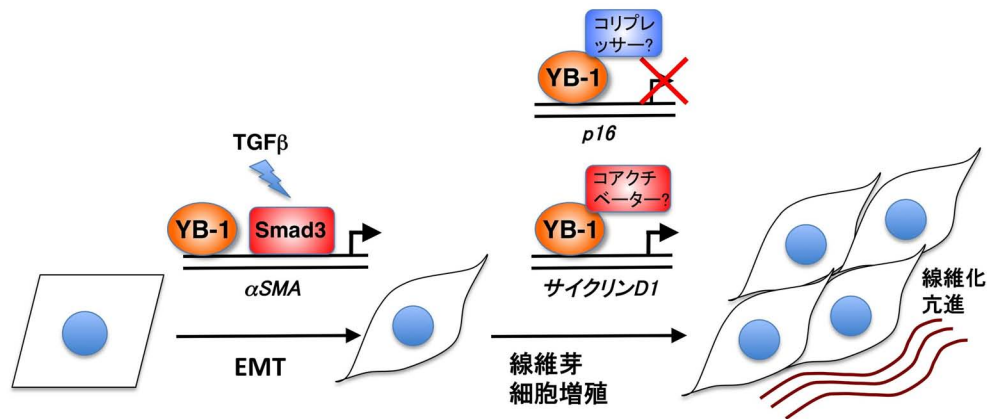


図 1. YB-1 を介した組織線維化のモデル

YB-1 は TGF- β シグナルによる活性化した Smad と協力して上皮間葉転換のマーカである α SMA 遺伝子の発現を促進する。YB-1 は転写レベルでの CDK 阻害タンパク質 p16 の発現抑制とサイクリン D1 の発現亢進により、EMT した線維芽細胞の増殖にも関与することが予想され、総じて組織線維化の促進因子として働くと考えられる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、浜松医科大学医学部呼吸器内科の原田雅教、美甘真史、須田隆文である。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝致します。

文献

- 1) Kotake Y, Ozawa Y, Harada M, Kitagawa K, Niida H, Morita Y, Tanaka K, Suda T, and Kitagawa M: YB1 binds to and represses the p16 tumor suppressor gene. *Genes Cells*. 2013;18:999-1006. doi: 10.1111/gtc.12093
- 2) Harada M, Kotake Y, Ohhata T, Kitagawa K, Niida H, Matsuura S, Funai K, Sugimura H, Suda T, Kitagawa M. YB-1 promotes transcription of cyclin D1 in human non-small-cell lung cancers. *Genes Cells*. 2014;19:504-16. doi: 10.1111/gtc.12150