

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 小 林 貴

本研究は人口の高齢化と生活習慣の欧米化により、罹患率増加を認める動脈硬化症において重要な役割を演じていると考えられる血管平滑筋細胞の細胞増殖制御機構を明らかにするために、長寿遺伝子 *silent information regulator2* の最も代表的なヒトホモログである *SIRT1* との関連を研究したものであり、下記の結果を得ている。

1. *SIRT1* の特異的阻害薬である *Sirtinol* 投与によりヒト血管平滑筋細胞 (HSMC) の細胞増殖抑制が示された。細胞増殖抑制効果は *Sirtinol* 投与後 9 日目までの経時的な細胞数測定や投与後 10 日目の検体の *BrdU* 取り込み能低下減少で示されている。
2. *Sirtinol* 投与や *small interfering RNA* により *SIRT1* 阻害した細胞は形態上老化様形質をとることが老化の指標として使用される *senescence-associated-β-galactosidase* 染色による陽性細胞増加により示された。
3. *SIRT1* 阻害による HSMC の細胞増殖抑制、老化形質発現の調節分子につき *Western blotting* を用い調べたところ、*p53* と *p53* の *acetyl* 化、*p21*、*p27* の発現

上昇が認められ、p53 と p53 の acetyl 化が中心的な役割を果していることが示された。

4. SIRT1 阻害による成長因子である Epidermal Growth Factor (EGF) に対する mitogen-activated protein kinase pathway 反応について Western blotting を行ったところ、small interfering RNA で SIRT1 をノックダウンしてから 10 日後の検体に EGF 刺激した検体では Control siRNA 群に対し extracellular-regulated kinases、stress-activated protein kinase / Jun N-terminal kinase の活性化低下が示された。これから老化形質をとった HASMC は成長因子に対するシグナル反応性の低下がみられることが示された。

以上、本論文は HASMC において SIRT1 阻害による解析から細胞増殖抑制、老化形質発現、その分子機序、シグナル伝達への影響を明らかにした。本研究は血管老化という視点から動脈硬化予防や機序解明だけでなく、Drug eluting stent、長寿薬 (caloric restriction mimetics) などを含めた薬剤の開発研究にも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。