

論文内容要旨

論文題目

糖尿病ラットバルーン傷害モデル，及び培養血管平滑筋細胞に対する thrombospondin-1 による p38 MAP kinase 活性亢進機序と生物学的効果の検討

責任講座： 内科学第三講座

氏名： 神部 裕美

糖尿病性大血管障害の成因には、高血糖に由来する高浸透圧や酸化作用、サイトカインや protein kinase C (PKC) 活性亢進などの機序が示唆されているが、詳細なメカニズムは未だ十分に解明されてはいない。本研究では、糖尿病で活性が亢進する血小板と関係の深い thrombospondin (TSP) -1 の細胞機能調節因子としての役割に着目した。バルーン傷害による糖尿病ラットの肥厚内膜での TSP-1 の発現と、インスリン投与の影響に加え、糖尿病ラット由来培養血管平滑筋細胞 (VSMC) での TSP-1 刺激による、特にこれまで関与が報告されていない p38 を中心とした MAP kinase (MAPK) の活性亢進の有無、及びその上・下流のシグナル伝達経路を解析し、細胞増殖や遊走能、プロスタグランジン (PG) 産生などの生物学的効果に対する影響を検討した。

ラットのバルーン傷害モデルでは、正常ラットに比べ、糖尿病ラットで新生内膜の肥厚とともに MAPK family (ERK, p38, JNK) のリン酸化、及び TSP-1 とその受容体である CD36 の発現の亢進が認められたが、インスリン投与ラットでは、血糖値の低下によりいずれも抑制された。次いで、ラット培養 VSMC を TSP-1 で刺激した際の MAPK と細胞機能の変化について検討した結果、MAPK family はいずれも TSP-1 により時間と濃度依存性にリン酸化を受けた。その中で、p38 と ERK に関しては PKC を介していた。そこで、TSP-1 刺激による p38 を介した正常と糖尿病ラット由来の VSMC の生物学的効果について検討した結果、細胞増殖には影響を与えなかったが、遊走能に関しては PKC を介して制御していることが明らかにされた。また、高濃度の TSP-1 では、糖尿病由来の VSMC の遊走能をさらに亢進させた。また、TSP-1 は VSMC の PG 活性にも影響を及ぼし、血小板凝集や血管透過性の亢進などを惹起する PG E₂ の活性を、p38 とともに ERK, JNK を介して亢進させることが明らかにされた。

本研究では、TSP-1 の p38 を介した高血糖状態に由来する VSMC を中心とした細胞機能の変化を新たに明らかにし、これにより TSP-1 が糖尿病による動脈硬化症の進展に重要な役割を果たしている事が示唆された。

平成 18 年 2 月 / 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 神部 裕美

論文題目： 糖尿病ラットバルーン傷害モデル、及び培養血管平滑筋細胞に対する thrombospondin-1 による p38MAP kinase 活性亢進機序と生物学的効果の検討

審査委員： 主審査委員 一瀬白永 (印)

副審査委員 中村孝夫 (印)

副審査委員 後藤 薫 (印)

審査終了日： 平成 18 年 1 月 20 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

糖尿病性大血管障害は、高血糖とインシュリンに関係する種々の代謝異常が内皮細胞の機能障害を惹起することによってもたらされるが、その詳細なメカニズムはまだ十分に解明されていない。血管障害を増悪させる因子の一つとして糖尿病で活性が亢進する血小板の関与が推定され、その α 顆粒から放出される thrombospondin (TSP) -1 が惹起する細胞内シグナル伝達において、protein kinase C (PKC)やその他の protein kinase が活性化されることが知られている。神部君は、TSP-1 の細胞機能調節因子としての役割に着目して、糖尿病ラットとその大動脈由来の培養平滑筋細胞 (VSMC) を用いて、これまで知られていなかった p38 を中心とした MAP kinase (MAPK) の TSP-1 刺激による動態を新たに解析し、その生物学的効果に対する影響を検討した。

まずラットのバルーン傷害モデルを用いた生体内の実験で、糖尿病ラットでは正常ラットに比べ新生内膜の肥厚が有意に増加すると共に、TSP-1 とその受容体である CD36 の発現が亢進すること、更に MAPK family (ERK、p38、JNK) のリン酸化が促進されていることを見出した。これらの変化は、インスリン投与により血糖値の低下と共にいずれも抑制されたという。新生内膜では中膜から遊走してきた平滑筋細胞が増殖の主体であるので、次の培養細胞での実験ではラット胸部大動脈由来の培養 VSMC を用いた。この細胞を TSP-1 で刺激したところ、前述した MAPK family 3 者は時間及び濃度依存性にリン酸化を受けること、TSP-1 刺激による p38 のリン酸化は糖尿病ラット由来の VSMC では正常ラット由来の細胞よりも有意に亢進していること、p38 と ERK のリン酸化亢進は PKC に依存していることが分かった。TSP-1 刺激の生物学的効果については、PKC を介した細胞増殖には p38 は関与していなかったが、同じく PKC を介した遊走能の亢進に関しては p38 が関与していることを明らかにした。また、TSP-1 によって惹起される PGE₂ の活性亢進の少なくとも一部は、p38 をはじめ ERK、JNK などの MAPK family に依存していることが分かった。

以上のように神部君は、高血糖状態に由来する VSMC の細胞機能の変化を TSP-1 の発現増加という側面から詳細に解析して、TSP-1 刺激による遊走能の亢進、血小板凝集や血管透過性の亢進を惹起する PGE₂ 産生の亢進などの現象に p38 が関与していることを初めて明らかにし、糖尿病による大血管障害、特に動脈硬化症の進展に TSP-1 が果たす役割と機序についての新知見を付与した。

従って、本審査委員会は本研究の論文を学術的に優れていると認め、学位 (医学) を授与するに値するものと判定した。

(1,200 字以内)