

論文内容要旨

論文題目

Growth factor Midkine deteriorates pulmonary arterial hypertension via cell surface nucleolin

(成長因子 Midkine は細胞表面の Nucleolin を介し肺動脈性肺高血圧症を悪化させる)

責任講座：内科学第一講座

氏名： 木下 大資

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】肺動脈性肺高血圧症は根本的治療のない進行性の疾患である。Midkine は細胞増殖、抗アポトーシス、炎症細胞の遊走など、多彩な作用を有する成長因子である。一方、Nucleolin は細胞表面に発現し、細胞増殖に関与する Midkine の受容体の一つと考えられている。本研究では肺動脈性肺高血圧症において、Midkine が細胞表面 Nucleolin を介して、肺動脈性肺高血圧症の進行に関与すると仮説を立て検討を行った。

【方法・結果】低酸素誘導肺高血圧マウスおよび肺動脈性肺高血圧患者の血清で Midkine の発現が見られた。Midkine 欠損遺伝子改変マウスでは低酸素誘導肺高血圧における肺血管リモデリングおよび右室肥大が抑制されていた。肺動脈血管平滑筋細胞(PASMC, pulmonary arterial smooth muscle cell)において低酸素刺激により、Nucleolin の核から膜への局在変化が見られた。Midkine と Nucleolin の免疫沈降では、低酸素刺激により Midkine と Nucleolin の相互作用が増加した。Midkine は上皮成長因子受容体(EGFR, epidermal growth factor receptor)の活性化を促すが、Midkine による EGFR の活性化は、低酸素下でさらに増強した。Midkine による PASMC の増殖作用は、正酸素下に比べて低酸素下ではさらに増強した。siRNA (small interfering RNA)を用いて Nucleolin の発現を抑制すると、Midkine による EGFR の活性化は抑制された。また EGFR の発現を抑制すると、Midkine による EGFR 下流シグナルの ERK1/2 (extracellular regulate kinase)の活性化が抑制された。Nucleolin 阻害剤の AS1411 は Midkine と Nucleolin の結合を抑制し、Midkine による EGFR の活性化および細胞増殖を抑制した。Su5416 を用いて作成したラット重症肺高血圧モデルにおいても、AS1411 は右室収縮期血圧を有意に低下し、右室肥大を軽減した。組織学的検討では、AS1411 投与により肺血管リモデリングが有意に抑制され、細胞増殖マーカーである PCNA(proliferation cell nuclear antigen)の発現が有意に減少した。

【結論】Midkine は低酸素刺激により細胞表面に発現した Nucleolin を介して、肺動脈性肺高血圧の進行に関与することが示唆された。

平成 29年 1月 12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： 木下 大資

論文題目： Growth factor Midkine deteriorates pulmonary arterial hypertension via cell surface nucleolin (成長因子 Midkine は細胞表面の Nucleolin を介し肺動脈性肺高血圧症を悪化させる)

審査委員：主審査委員 北中 千史



副審査委員 石井 邦明



副審査委員 後藤 薫



審査終了日：平成 29年 1月12日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

肺動脈性肺高血圧症は進行性の肺高血圧により右心不全をきたし死に至る予後不良の致死的疾患である。その病態発現にかかわる分子機序については近年種々の仮説が提唱され新規治療法の開発が試みられてはいるものの、いまだ根本治療の確立には至っていない。このような状況の中で、申請者は肺動脈性肺高血圧症の病態形成に寄与する因子としてこれまで報告のなかった成長因子midkineに着目し、本研究においてその肺動脈性肺高血圧症病態における役割と機序について検討を行った。その結果、

- 1) 肺動脈性肺高血圧症患者の血清でmidkine濃度が上昇していること、
- 2) 低酸素誘導性肺高血圧マウスにおいても血清midkine濃度の上昇が認められること、そしてmidkine遺伝子欠損マウスでは低酸素誘導による肺血管のリモデリングならびに右室肥大が抑制されていること、
- 3) ラット由来肺動脈血管平滑筋細胞を用いたin vitro実験により、核内に存在するnucleolinが低酸素条件下で細胞表面に移行してmidkine受容体として機能し、EGFRおよび下流のERK経路の活性化を介して細胞増殖、運動性を促進している可能性、
- 4) In vitroにおいてnucleolin阻害作用をもつaptamer AS1411がmidkineとnucleolinの結合阻害によりmidkineによるEGFRの活性化及び細胞増殖を抑制している可能性、in vivoではラット重症肺高血圧モデルにおいてAS1411が肺血管のリモデリングならびに細胞増殖、右室収縮期圧そして右室肥大を抑制すること、

を示した。

以上の結果は肺動脈性肺高血圧症の病態発現にmidkine - nucleolin - EGFR axisが関与している可能性を世界に先駆けて示すものであると同時にnucleolin阻害薬の肺動脈性肺高血圧症治療薬としての可能性も示す研究成果であり、肺動脈性肺高血圧症の病態解明ならびに治療法開発に大きく寄与する知見と考えられる。学位論文中には様式変更を含め若干の表記上の修正を要する点が指摘されたが、このようなminor revisionの要求に適切に対応することを前提に本審査委員会は本研究が学位（医学）の授与に値するものと判定する。

(1, 200字以内)