

氏名	シヨ 諸	カツ 葛	キン 欣
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)		
学位記番号	医 博 第 2902 号		
学位授与の日付	平 成 17 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当		
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻		
学位論文題目	CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells (ケモカイン CXCL16 は、ヒト臍帯静脈内皮細胞に対する新規血管新生因子である)		
論文調査委員	(主 査) 教 授 長 澤 丘 司 教 授 湊 長 博 教 授 米 田 正 始		

論 文 内 容 の 要 旨

近年、腫瘍増殖・心血管疾患・慢性炎症・創傷治癒などの過程における血管新生と白血球浸潤の関係について、強い関心が寄せられてきた。血管新生と炎症は、血管内皮細胞と白血球がケモカインなどの共通の刺激に反応して起きる共働反応である。CXCL16は、粥状動脈硬化形成過程で細胞内コレステロール蓄積に関わる独特なケモカインであるが、これまでにこのCXCL16が感染性心内膜炎・リウマチ性および動脈硬化性弁膜症の患者の心臓弁およびその新生毛細血管内皮に強く発現していることが報告されている。本研究で申請者は、CXCL16が実際に新規血管新生因子として機能して、直接血管新生過程に関与しているかどうかを検証した。

まず、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いた *in vitro* 実験により、血管新生因子としてのCXCL16の機能を評価した。WST-1による細胞増殖能検定では、CXCL16存在下に48時間培養すると、HUVECは量依存的に増殖し、1nMの濃度で細胞数は対照群より35%増えることが示された。また、ボイデンチャンバー法による走化性(ケモタキシス)試験では、CXCL16は量依存的にHUVECの走化能を増加させ、1nMの濃度で4時間刺激すると対照群よりケモタキシスは40%増えた。さらにMatrigelアッセイでHUVECの管腔形成能を調べると、1nMのCXCL16の投与により、管腔長の総和は対照群より1.5倍増加した。

次に、これまでの研究から、さまざまな血管新生因子により惹起される内皮細胞の増殖、遊走、形態形成にはERKの活性化が深く関わっていることが示されているので、CXCL16を介する情報伝達におけるERKの活性化について研究を行った。HUVECをCXCL16で刺激すると、時間(10分後に最大)および量(1nMで最大)依存的にERKが活性化された。CXCL16刺激の30分前にMEKを阻害するPD98059化合物で前処置しておく、このERK活性化は完全に阻止された。

最後に、HUVECにおけるCXCL16の血管新生作用に、ERKの活性化が必要かどうかを検証した。PD98059で前処置しておく、CXCL16による細胞増殖と管腔形成は阻止されたが、ケモタキシスはその影響を受けなかった。このことから、CXCL16により惹起されるHUVECの細胞増殖と管腔形成にはERKが関与しているが、走化能には関わらないことが明らかになった。

以上の結果から、CXCL16は新規血管新生因子として血管新生に直接関与して、血管壁の炎症反応にも重要な役割を果たしていることが示唆された。本研究は虚血性心疾患や末梢血管閉塞症など動脈硬化性疾患に対する治療法を開発する上で有意義な知見と考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ケモカインCXCL16は、動脈硬化病変や炎症性心弁膜症の内皮に発現し、病態との関連が注目されている。本研究ではCXCL16が血管新生因子として機能するかどうかを検証した。

ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)におけるCXCL16受容体発現を確認した後、この細胞に対するCXCL16の血管新生

機能を *in vitro* で解析した。WST-1 アッセイで HUVEC は CXCL16 存在下48時間培養で量依存的に増殖し、1nM の濃度で細胞数は対照より35%増加した。また、ボイデンチャンバー法で CXCL16 は用量依存的に HUVEC の走化能を刺激し、1nM の濃度で対照よりケモタキシスは40%増えた。一方 Matrigel アッセイで 1nM の CXCL16 投与は HUVEC 管腔長総和を対照より1.5倍増加させた。更に CXCL16 は時間および用量依存的に HUVEC の ERK を活性化し、この活性化は MEK 阻害剤 PD98059 の30分間前処置で完全に阻止された。PD98059 前処置は CXCL16 の HUVEC 増殖ならびに管腔形成作用を阻止したがケモタキシスは影響を受けなかった。以上より、HUVEC における CXCL16 の血管新生作用において、ケモタキシスは細胞増殖や管腔形成と異なる機構を介すると考えられた。

以上の研究は CXCL16 が血管新生因子であることを証明し、動脈硬化性疾患の病態解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年6月27日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。