

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と、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 で前処置しておくと、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。