

氏 名	岡 田 正 治
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2091 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 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	Cyclic Stretch Upregulates Production of Interleukin-8 and Monocyte Chemotactic and Activating Factor/in Human Endothelial Cells (内皮細胞における周期的伸展刺激によるインターロイキン-8及び単球遊走因子の産生誘導)
	(主査)
論文調査委員	教授 月田承一郎 教授 中尾一和 教授 篠山重威

論 文 内 容 の 要 旨

血管壁に加わるずり応力、伸展刺激、圧力等の機械的刺激は内皮細胞機能に影響を与え、様々な生理活性物質の産生を調節して、ホメオスタシスの維持に関わるとともに、動脈硬化病変形成をはじめとした種々の病態形成に関与することが知られている。動脈硬化病変は血管の分岐部や彎曲部など伸展刺激の強い部位に好発し、また、動脈硬化の危険因子である高血圧は、血管壁に過大な伸展刺激を加えるとの報告もあり、伸展刺激の動脈硬化病変形成に対する関与が推察される。一方、内皮細胞より分泌される種々のサイトカインは、動脈硬化病変形成に重要な役割を果たしていることが知られている。そこで、内皮細胞において、伸展刺激がサイトカイン産生に及ぼす影響に関し検討した。

臍帯静脈より採取した内皮細胞をフィブロネクチンにてコートしたシリコン膜上に播種し、シリコン膜の下面に周期的陰圧を加えることにより、内皮細胞に周期的伸展刺激を加えた。同システムにて1分間に60回の頻度で周期的伸展刺激を加え、培養上清中のサイトカイン蛋白量をELISA, RIAにて、また、mRNAレベルをノーザンブロット法にて検討した。

平均16%の伸展刺激を24時間加えた後の培養上清中のサイトカイン蛋白量を同時間静置したものと比較すると、interleukin (IL) -8及びmonocyte chemocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1 (MCAF/MCP-1)に関し、各々 2.6 ± 0.2 倍、 2.8 ± 0.3 倍の増加を認めた。IL-8及びMCAF/MCP-1のmRNAレベルは伸展刺激により上昇を認め、伸展刺激によりIL-8及びMCAF/MCP-1の遺伝子発現が増強されることが明らかとなった。また、種々の強度の伸展刺激を加え比較したところ、IL-8及びMCAF/MCP-1のmRNAレベルは伸展刺激の強度に依存して上昇を認め、伸展刺激強度依存的に遺伝子発現が増強されることが明らかとなった。続いて、伸展刺激によるIL-8及びMCAF/MCP-1の遺伝子発現増強のメカニズムに関し検討した。Stretch-activated ion channelは伸展により活性化され Ca^{2+} 等のイオンの流入を促すイオンチャンネルとして知られているが、 Gd^{3+} にてこれを阻害しても伸展刺激による遺伝子発現増強は抑制されなかった。一方、アクチン細胞骨格は伸展刺激により増強されアクチンストレスファイバーの形成を認めたが、サイトカラシンDにてアクチンの重合を阻害すると伸展刺激によるIL-8及びMCAF/MCP-1の遺伝子発現増強は抑制された。微小管も細胞骨格の構成成分の一つであるが、コルヒチンによる微小管形成の阻害は明らかな影響を示さなかった。次に、各種酵素阻害薬を用い、伸展刺激によるIL-8及びMCAF/MCP-1の遺伝子発現増強における細胞内情報伝達経路について検討した。ホスホリパーゼC (PLC)、プロテインキナーゼC (PKC)、及びチロシンキナーゼ (TK) の阻害は伸展刺激による遺伝子発現増強を抑制したが、A-キナーゼ及びG-キナーゼの阻害では抑制はみられなかった。

以上、1) 伸展刺激は内皮細胞において、IL-8及びMCAF/MCP-1の産生、遺伝子発現を強度依存的に九進させること、及び、2) 伸展刺激によるこれらサイトカインの遺伝子発現増強には、アクチン細胞骨格、PLC、PKC、TKが重要な役割を果たしていること、が明らかとなった。動脈硬化病変形成初期には、単球やリンパ球の内皮下への侵入、集簇が見られ、

病変の進展に重要な役割を担っていることが知られているが、伸展刺激によりIL-8, MCAF/MCP-1といった白血球遊走因子の産生亢進がみられるという本研究の知見は、伸展刺激による動脈硬化病変形成誘起のメカニズムを説明するものであると思われる。

論文審査の結果の要旨

血管壁に加わる過大な伸展刺激は、種々の知見より、動脈硬化病変形成に対し促進的に作用することが推察されるが、そのメカニズムは明らかでない。本研究の目的は、内皮細胞において、伸展刺激が動脈硬化病変形成において重要な役割を果たしていると考えられるサイトカイン産生に対していかなる影響を及ぼすか明らかにすることである。

臍帯静脈より採取した内皮細胞に周期的伸展刺激を加えると、種々のサイトカインの内、IL-8及びMCAF/MCP-1のタンパク及びmRNAレベルの有意な上昇を認めた。mRNAレベルの上昇は、伸展刺激強度依存的であった。アクチン細胞骨格は伸展刺激により増強されアナチンストレスファイバーの形成が認められたが、サイトカラシンDにてアクチンの重合を阻害すると伸展刺激によるIL-8及びMCAF/MCP-1の遺伝子発現増強は抑制され、その関与が示唆された。Stretch-activated ion channel, 微小管の関与は否定的であった。また、細胞内情報伝達経路に関わる酵素としては、ホスホリパーゼC, プロテインキナーゼC, チロシンキナーゼの関与が示唆された。

以上の研究は動脈硬化病変形成のメカニズムの解明に貢献し、今後の動脈硬化予防に寄与するところが大い。

従って、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。

尚、本学位授与申請者は、平成11年2月1日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。