

氏 名	おお はし ひろ かず 大 橋 啓 一
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2757 号
学位授与の日付	平成 16 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 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt regulates Angiotensin II-induced inhibition of apoptosis in microvascular endothelial cells by governing survivin expression and suppression of Caspase-3 activity (アンジオテンシンⅡによる微小血管内皮細胞のアポトーシス抑制はPI3キナーゼ・Akt経路を介し, survivin発現誘導およびCaspase-3活性抑制により起こる)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 北 徹 教 授 鈴 木 茂 彦

論 文 内 容 の 要 旨

アンジオテンシンⅡ (AⅡ) はレニン・アンジオテンシン系の主要な蛋白であり、血管の恒常性維持に重要な役割を担っている。またAⅡは心脈管系の病的変化にも関与していることが報告されている。近年細胞のアポトーシスがこれらの病的変化に重要な働きを持つことが示され、AⅡのアポトーシス制御因子としての働きが注目されてきた。しかしながら、AⅡによるアポトーシス制御は細胞・組織特異性が高く、そのメカニズムについても不明な点が多い。今回我々は微小血管である網膜血管の内皮細胞におけるAⅡのアポトーシス制御とそのメカニズムについて検討した。培養ブタ網膜血管内皮細胞(PREC)を用いて、血清除去によって誘導されるアポトーシスにAⅡが及ぼす影響を検討したところ、AⅡはPRECのアポトーシス誘導を抑制し、24時間後に最大約50%の抑制効果がみられた。AⅡ Type1 受容体(AT1)、PI3・キナーゼの特異的阻害剤およびアデノウイルスベクターによるAktの活性阻害によりAⅡのアポトーシス抑制効果は阻害された。それに対してAⅡ Type2 受容体、ERK1/2および活性酸素の阻害薬はAⅡのアポトーシス抑制効果に影響しなかった。またAⅡはアポトーシス抑制因子の一つであるsurvivinの発現をmRNAおよび蛋白レベルで増強し、アポトーシスの主要な実行因子であるCaspase-3の活性を抑制した。AⅡによるこれらの変化はAT1/PI3・キナーゼ/Akt経路を阻害することで抑制された。さらにAⅡによる網膜血管内皮細胞のアポトーシス抑制効果を *in vivo* で確認するため、AT1aノックアウト(AT1aKO)マウスおよびWild typeマウスを用いて高圧酸素負荷による網膜血管の脱落を比較した。AT1aKOマウスでは高圧酸素負荷によってWild typeマウスよりも網膜血管内皮細胞のアポトーシスが多く起こり、網膜におけるsurvivinの発現が減弱していることが観察された。その結果、酸素負荷前には同程度であった網膜血管が、酸素負荷後にはAT1aKOマウスにおいて有意に多く脱落していた。これらの結果からAⅡはAT1/PI3・キナーゼ/Akt経路を介して、survivin発現を誘導し、Caspase-3活性を低下させることで網膜血管内皮細胞においてアポトーシス抑制因子として働いている可能性が示唆された。血管新生においては血管内皮細胞のアポトーシスが重要な働きをしていることから、以上の結果は眼内血管新生を伴い、成人における失明の主要原因の一つである増殖型糖尿病網膜症に対して臨床的にACE阻害薬が使用され、病状の進行予防に効果を上げている事実の分子生物学的一機序を示唆しているだけでなく、加齢性黄斑変性症などの病的血管新生を伴う眼疾患に対しても新たな治療の可能性を示唆していると思われた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年アンジオテンシンⅡ (AⅡ) アポトーシス制御因子としての働きが注目されているが、細胞・組織特異性が高く、メカニズムについても不明な点が多い。今回申請者らは網膜血管の内皮細胞におけるAⅡのアポトーシス制御機構について検討した。培養ブタ網膜血管内皮細胞においてAⅡは血清除去によって誘導されるアポトーシスを抑制した。またAⅡは

survivin の発現を mRNA および蛋白レベルで増強し, Caspase-3 の活性を抑制した。これらの現象は AT1/PI3・キナーゼ/Akt 経路を阻害することで抑制された。さらに AT1a ノックアウトマウスでは高圧酸素負荷によって Wild type マウスよりも網膜血管内皮細胞のアポトーシスが多く起こり, 網膜における survivin の発現が減弱していることが観察された。これらの結果から AII は AT1/PI3・キナーゼ/Akt 経路を介して, survivin 発現を誘導し, Caspase-3 活性を低下させることで網膜血管内皮細胞においてアポトーシス抑制因子として働いている可能性が示唆された。

以上の研究は網膜微小血管内皮細胞におけるアンジオテンシン II アポトーシス制御機構の解明に貢献し, 網膜血管病変の病態解明に重要な知見であると考えられる。

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16年2月25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。