

|             |                                                                                                                                                                                                                                 |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | うえ の やすし<br>上 野 泰                                                                                                                                                                                                               |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                       |
| 学 位 記 番 号   | 医 博 第 2493 号                                                                                                                                                                                                                    |
| 学位授与の日付     | 平 成 14 年 3 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 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻                                                                                                                                                                                                     |
| 学 位 論 文 題 目 | Lysophosphatidylcholine phosphorylates CREB and activates the<br>jun2TRE site of c-jun promoter in vascular endothelial cells<br>(Lysophosphatidylcholine は血管内皮細胞において CREB 蛋白をリン酸化し、<br>c-jun promoter 領域の jun2TRE site を活性化する) |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 内 山 卓 教 授 野 田 亮 教 授 橋 本 信 夫                                                                                                                                                                                        |

### 論 文 内 容 の 要 旨

低比重リポ蛋白 (LDL) の酸化変性の過程で生成されるリン脂質リゾフォスファチジルコリン (Lyso-PC) により惹起される接着分子、増殖因子などの動脈硬化関連の発現群の発現誘導を伴う血管内皮細胞の機能変化が、動脈硬化の発生、進展に重要な役割を担うと考えられている。Lyso-PC による転写制御機構の解明の一端として、c-jun 遺伝子の発現に対する Lyso-PC の効果とその転写制御機構について検討した。

ノザンプロットなどにより Lyso-PC が c-jun の発現を濃度および時間依存的に誘導することが示された。c-jun 遺伝子の promoter 領域を用いた luciferase reporter gene assay では jun2TRE 及び AP-1 の binding sequence を含んだ領域で Lyso-PC により c-jun 遺伝子の転写活性は12.9倍増加した。更に jun2TRE site に point mutation を加えると、Lyso-PC による c-jun 遺伝子の転写活性が有意に抑制された。

次に Lyso-PC で刺激した培養ウシ内皮細胞から細胞核を抽出し、標識された jun2TRE の配列を持ったオリゴヌクレオチドを用いて electrophoretic mobility shift assay を行うと、刺激15-30分後にシフトバンドの誘導が認められた。このバンドは過剰の非標識オリゴヌクレオチドを加えることにより消失し、更に抗 CREB 抗体を用いることによりバンドの消失が認められた。リン酸化 CREB に特異的な抗体を用いたウエスタンプロットでは、Lyso-PC 刺激により速やかに CREB がリン酸化されることが示された。

以上より Lyso-PC は培養血管内皮細胞において c-jun 遺伝子の発現を誘導するが、その遺伝子発現には Lyso-PC によりリン酸化された CREB が c-jun 遺伝子の promoter 領域で jun2TRE site に結合し転写が誘導されることが考えられた。また、jun2TRE に依存する他の遺伝子においても同様に Lyso-PC により転写が誘導される可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

リン脂質 Lysophosphatidylcholine (Lyso-PC) は低比重リポ蛋白の酸化変性の過程で生成され、血管内皮細胞において接着分子・増殖因子などの発現を誘導し動脈硬化の発生、進展に重要な役割を担うと考えられている。本研究ではその転写制御機構について検討した。培養ウシ内皮細胞では Lyso-PC 刺激により c-jun 遺伝子の発現が認められ、その転写活性に jun2 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate response element (jun2TRE) の影響が示唆された。細胞核では標識された jun2TRE のオリゴヌクレオチドへの結合増強が認められ、cyclic adenosine mono-phosphate responsive element binding protein (CREB) 抗体を用いることにより結合は消失した。

培養血管内皮細胞における Lyso-PC による c-jun 遺伝子の発現には、リン酸化された CREB の jun2TRE site への結合を介した転写制御機構が関与していると考えられた。以上の研究は Lyso-PC による転写制御機構の解明に貢献し、動脈硬化の病態の解明と治療に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年3月11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。