

氏 名	あし だ のほる 芦 田 昇
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2434 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 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Distinct Signaling Pathways for MCP-1-dependent Integrin Activation and Chemotaxis (MCP-1によるインテグリンの活性化とケモタキシスにおける別々のシグナル伝達経路)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 清 野 裕 教 授 北 徹

論 文 内 容 の 要 旨

【研究の背景と目的】

動脈硬化は虚血性心疾患や脳梗塞などの原因とされており、その進展増悪機構の解明は非常に重要である。動脈硬化の初期段階においては、血液中の単球がインテグリンを介して血管内皮上の接着分子に接着し、その後血管内皮下に移動すると言われているが、その段階において重要な働きをしているものとして近年注目されているのがケモカインの一つである MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) である。MCP-1 は、単球のインテグリンを活性化させることにより血管内皮への接着を促進したり、濃度勾配依存性に単球を血管内皮下に遊走させる (ケモタキシス) ことにより、動脈硬化に関与していると思われる。しかしながら、その細胞内でのシグナル伝達の仕組みは明らかになっていない。また、最近では細胞内シグナル伝達において、増殖や分化、アポトーシスなどに関与しているとされる MAP キナーゼや、細胞骨格の構成に関与しているとされる Rho が注目されている。そこで本研究では、MCP-1 による単球のインテグリン活性化とケモタキシスに関与する細胞内シグナル伝達を解明するため、単球系細胞株である THP-1 細胞を用いて、MAP キナーゼである ERK, p38 と Rho, Rho キナーゼの役割を検討した。

【結果】

MCP-1 は、 $\beta 1$ インテグリンを介して接着分子蛋白である VCAM-1 や細胞外マトリックスであるフィブロネクチンへの細胞接着を促進した。この MCP-1 によるインテグリン活性化における ERK と p38 の役割を検討するため、MEK 阻害薬である PD98059 と p38 阻害薬である SB203580 を用いて実験を行った。

MCP-1 による細胞接着は PD98059 によって濃度依存性に抑制されたが、SB203580 によっては影響を受けなかった。すなわち、MCP-1 によるインテグリン活性化においては p38 ではなく ERK がシグナル伝達を担っていると考えられた。

また、MCP-1 によるケモタキシスについても同様に検討したところ、ケモタキシスは p38 阻害薬 (SB203580) によって濃度依存性に抑制されたが、MEK 阻害薬 (PD98059) によっては影響を受けなかった。すなわち、MCP-1 によるケモタキシスにおいては、インテグリン活性化とは逆に、ERK ではなく p38 がシグナル伝達を担っていると考えられた。

次に、Rho 阻害薬である C3 exoenzyme と Rho キナーゼ阻害薬である Y-27632 を用いて MCP-1 によるインテグリン活性化とケモタキシスにおける Rho, Rho キナーゼの役割を検討した。その結果、C3 exoenzyme, Y-27632 共に MCP-1 によるケモタキシスを抑制したが、インテグリンを介した細胞接着には影響を与えなかった。さらに、Rho 阻害薬 (C3 exoenzyme) は、MCP-1 による p38 のリン酸化を阻害したが、ERK のリン酸化には影響しなかった。すなわち、Rho, Rho キナーゼは MCP-1 によるインテグリン活性化ではなくケモタキシスに p38 とともに関与していると考えられ、またこれらは MCP-1 によるシグナル伝達において p38 の上流にあると考えられた。

【結論】

ERK は MCP-1 によるインテグリンの活性化に、p38 はケモタキシスに関与しており、それぞれの経路は独立したシグ

ナル伝達により制御されていると考えられた。また、Rho と Rho kinase は MCP-1 によるシグナル伝達において ERK ではなく p38 の上流に存在すると思われた。

論文審査の結果の要旨

動脈硬化の初期段階における単球の接着・遊走には、単球のインテグリン活性化による血管内皮への接着と、ケモタキシスが重要な役割を果たしているが、ケモカインの一つである MCP-1 は、これらを引き起こすことにより動脈硬化に関与していると考えられる。本研究では、その細胞内シグナル伝達における MAP キナーゼと Rho の役割を、ヒト単球由来 THP-1 細胞を用いて検討した。

MCP-1 は、 $\beta 1$ インテグリンを介した接着分子への細胞接着を促進したが、これは p38 阻害薬ではなく MEK 阻害薬によって抑制された。反対に、ケモタキシスは MEK 阻害薬でなく、p38 阻害薬により抑制された。また、Rho 阻害薬と Rho キナーゼ阻害薬は共に MCP-1 によるケモタキシスを抑制したが、細胞接着には影響しなかった。さらにこれらの阻害薬は、MCP-1 による p38 のリン酸化を阻害したが、ERK のリン酸化には影響しなかった。

以上より、ERK は MCP-1 によるインテグリンの活性化に、p38 はケモタキシスに関与しており、各々の経路は独立していると考えられる。また、Rho と Rho キナーゼは MCP-1 によるシグナル伝達において p38 の上流に存在すると思われる。

以上の研究は、MCP-1 によるインテグリンの活性化とケモタキシスが別々のシグナル伝達経路により制御されている事を解明し、粥状動脈硬化の予防・治療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13年11月27日実施の論文内容とそれに関した試問を受け、合格と認められたものである。