

学位授与番号	乙第 1597 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 1 日
氏 名	薄 井 莊一郎
学位論文題目	Blood Lipid Mediator Sphingosine 1-Phosphate Potently Stimulates Platelet-derived Growth Factor-A and -B Chain Expression through S1P ₁ -G _i -Ras-MAPK-dependent Induction of Krüppel-like Factor 5 (脂質メディエータースフィンゴシン 1 リン酸は、S1P ₁ -Gi-Ras-MAPK に依存して Krüppel-like Factor 5 を誘導することにより血小板由来成長因子を強力に刺激する。)
論文審査委員	主 査 教 授 山 本 博 副 査 教 授 吉 本 谷 博 教 授 馬 淵 宏

内容の要旨及び審査の結果の要旨

血小板由来成長因子 (PDGF) は、間葉系細胞に対して強力な増殖促進及び化学遊走活性を示し、動脈硬化病変、悪性腫瘍の進展に関与することが示されている。筆者らは、傷害部位局所の内膜平滑筋細胞の産生する PDGF が新生内膜形成に関わることを明らかにしてきた。スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、活性化血小板から放出される脂質メディエーターであり、G 蛋白共役型受容体 S1P₁、S1P₂、S1P₃、S1P₄、S1P₅ を介して細胞増殖、分化、運動制御など多彩な作用を及ぼす。本研究で筆者は、S1P が新生内膜血管平滑筋細胞に作用して PDGF 産生を誘導するか否か、また誘導するのであれば、どのような細胞内シグナル伝達経路が関係するかについて検討した。

成獣ラットバルーン内皮剥離傷害血管の新生内膜から樹立した内膜平滑筋細胞において、S1P は濃度依存的に PDGF-A および -B 鎖 mRNA 発現および蛋白発現を誘導した。対照的に、中膜由来平滑筋細胞では、S1P は PDGF 産生を誘導しなかった。内膜細胞には S1P₁、S1P₂、S1P₃ 受容体サブタイプが発現していたが、中膜由来平滑筋細胞では S1P₂ および S1P₃ 受容体サブタイプのみが発現していた。

次に、受容体以後のシグナル伝達機構を検討した。S1P は低分子量 G 蛋白 Ras、Rac、Rho を活性化した。前二者の活性化は百日咳毒素 PTX による Gi の不活化によって抑制された。S1P は、Gi、Ras/Rac 依存的に ERK を、Gi、Ras 依存的に p38MAPK を活性化した。S1P による PDGF 発現は、Gi、Ras/Rac、ERK/p38MAPK に強く依存し、Rho、Rho キナーゼにも部分的に依存した。PDGF-B 鎖遺伝子プロモーター内に血管平滑筋の形質転換に重要な役割を果たすと考えられている転写因子 KLF5 の結合配列を見出した。S1P は、時間および濃度依存的に転写因子 KLF5 の発現を誘導し、この反応は Gi、Ras/Rac、ERK/p38MAPK に依存した。KLF5 発現は PDGF-B 鎖プロモーター活性を増加させ、プロモーター内の KLF5 結合部位への変異導入はプロモーター活性化を消失させた。RNAi による KLF5 発現の抑制は、S1P による PDGF 産生をほぼ完全に抑制し、逆に KLF5 の強制発現は PDGF 発現を誘導した。

S1P は、新生内膜平滑筋細胞において S1P₁ 受容体-Ras-ERK/p38MAPK-KLF5 の経路を介して PDGF 遺伝子発現および蛋白発現を誘導することが明らかになった。S1P は、傷害血管や動脈硬化巣で平滑筋増殖をうながし病態生理に関与する可能性が示唆された。

以上本研究は、脂質メディエーター S1P による新生内膜平滑筋細胞に選択的な PDGF 誘導とこれに関与する細胞内シグナル伝達機構をはじめ明らかにした点で、血管医学生物学に寄与し、学位に値する研究と評価された。