

血管内皮におけるカベオリン-1/内皮型一酸化窒素合成酵素複合体のEDHを介した微小循環の恒常性維持における重要性

著者	齊藤 大樹
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第16818号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00121613

学位論文要約

博士論文題目 血管内皮におけるカベオリン-1/内皮型一酸化窒素合成酵素複合体の EDH を介した微小循環の恒常性維持における重要性

.....東北大学大学院医学系研究科..... 医科学専攻

.....講座..... 循環器内科学分野

学籍番号 B2MD5046 氏名 齊藤 大樹.....

血管内皮細胞は内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factor: EDRF) と総称される3つの弛緩因子、一酸化窒素 (nitric oxide: NO)、プロスタサイクリン (prostacyclin: PGI₂)、内皮由来過分極因子 (endothelium-dependent hyperpolarization factor: EDH factor) を産生、遊離して血管のトーンスを調整している。EDRFは血管径に応じて寄与度が大きく異なり、太い血管(導管血管)ではNOが主であるが、血管径が狭小化するに従ってEDHの寄与が大きくなり、臓器灌流を規定する微小血管(抵抗血管)ではEDHが主な血管弛緩因子として働く。著者らの研究グループは、eNOSは太い血管では文字通りNO産生に与っているが、微小血管では主にEDHの産生源となっており、血管径に応じた生物学的多様性を持つことを明らかにした。また、こうした血管径に応じたeNOSの生物学的多様性には、細胞膜に存在するカベオラの主要構成タンパク質であるカベオリン-1 (caveolin-1: Cav-1)が重要であることを最近の研究で報告した。しかしながら、カベオリンの多様な生理作用と幅広い分布から、内皮細胞のカベオリン-1の微小循環における詳細な役割はいまだ明らかになっていない。そこで本研究では、新たに内皮特異的 Cav-1 欠損 (endothelium-specific Cav-1-knockout: eCav-1-KO) マウスを作成し、微小循環の恒常性維持における内皮細胞の Cav-1 の役割を検証した。

方法と結果: eCav-1-KO マウスは正常血圧であるにも関わらず、心肥大を呈していた。電子顕微鏡を用いた観察で、eCav-1-KO マウスでは内皮細胞でのみカベオラが消失していることが示された。免疫沈降法を用いた実験で、野生型マウスでは Cav-1/eNOS 複合体が形成されていたが、eCav-1-KO マウスでは複合体が消失していた。eCav-1-KO マウスの腸間膜動脈では、eNOSの活性化リン酸化部位である Ser1177のリン酸化の程度は不変であったが、抑制的リン酸化部位である Thr495のリン酸化が野生型マウスと比較して有意に減弱していた。これらの結果より eCav-1-KO マウスにおいて、eNOSが脱抑制状態にあることが示された。等尺性張力測定実験及び Langendorff 型灌流心モデルを用いた実験では、eCav-1-KO マウスは、内皮依存性弛緩反応において NO 依存性の反応が亢進していたが、一方で EDH 依存性の反応が減弱していた。過剰な NO 産生によってニトロ化環状ヌクレオチドである 3,5-cyclic monophosphate (8-nitro-cGMP) が生成され、シグナル伝達物質として作用を発揮することが報告されている。免疫組織化学的検討で、8-nitro-cGMPの発現が eCav-1-KO マウスの心臓で増加していることが示された。8-nitro-cGMPによるタンパク質修飾の一つである S-グアニル化と呼ばれる反応に関する検討において、eCav-1-KO マウスの心臓における H-Ras は野生型と比較して有意に S-グアニル化修飾を受けていた。また、eCav-1-KO マウスの心臓では、H-Ras の下流シグナルである MAP キナーゼが活性化していた。

結論: Cav-1/eNOS 複合体は eNOS の血管径に応じた生物学的多様性の調節に重要な役割を果たしており、eNOS からの過剰な NO 産生を抑制しニトロ化ストレスを抑制することで微小循環の恒常性を維持している。