

審査の結果の要旨

氏名 大浦 紀彦

本研究では、流れ負荷装置を用いて培養内皮細胞に乱流性・層流性の2種類のシェアストレスを暴露させる *in vitro* 実験をおこない、内皮細胞のシェアストレス応答遺伝子を DNA マイクロアレイで包括的に解析した。乱流に特異的に応答するいくつかの遺伝子に注目し、Real time PCR 法、ELISA で、遺伝子、蛋白の発現レベルについて検討した。

本研究により、以下の5点が新たな知見として得られた。

1. 培養血管内皮細胞 (HUVEC, HCAEC) では層流の動脈レベルのシェアストレスでは全体の約 3%、静脈レベルのシェアストレスでは約 2%、乱流の静脈レベルのシェアストレスでは約 1%の遺伝子が反応して発現が変化した。
2. 層流のシェアストレスには培養血管内皮細胞の抗酸化ストレスに働く遺伝子の発現を高め、一方、細胞増殖に関連する遺伝子の発現を抑制する効果が認められた。
3. 層流のシェアストレスに対する内皮遺伝子の 48 h までの時系列的な反応パターンをクラスター解析し、9種類のパターンに分類することができた。応答パターンは一様ではなく多様であることが示された。このことから、内皮細胞でシェアストレス刺激が感知されてから遺伝子発現変化を起こすまでの情報伝達経路が多岐にわたっている可能性が示唆された。
4. 乱流のシェアストレスに反応する内皮遺伝子を同定できた。その中には tPA, uPA, metalloproteinase など血管のリモデリングに関わる遺伝子が含まれていた。
5. 乱流刺激により内皮細胞の tPA と uPA の分泌が時間とともに増加し、逆にその inhibitor である PAI-1 の分泌は軽度減少するのが観察された。各 mRNA のレベルも蛋白の分泌とほぼ同様の変化を示した。一方、層流では tPA と uPA の分泌および mRNA のレベルは最初減少し、12 h で最低値を示した後、元に戻る反応が、PAI-1 のそれは軽度増加する反応が見られた。このことから HCAEC が乱流と層流の刺激を分別して認識していることと、乱流で発現の上昇する tPA, uPA が動脈硬化関連遺伝子として働く可能性が示唆された。

乱流はヒトの粥状動脈硬化病変は動脈の湾曲部や分岐部の血流が停滞、再循環、剥離などの二次流を生じる部位に好発する。このことから内皮細胞に対する乱流性のシェアストレスの作用と粥状動脈硬化の関係が注目されている。

本論文は、乱流性のシェアストレス応答遺伝子を包括的に解析した点で独自性があり、本研究の結果は、血流依存性の現象である血管新生、血管のリモデリングあるいはヒトの粥状動脈硬化病変の発生のメカニズムの解明や新しい治療法の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。