

審査の結果の要旨

氏名 里中 弘志

本研究は、血管炎症における脱リン酸化酵素 calcineurin の役割を明らかにするため、血管平滑筋細胞での monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 発現への calcineurin 強制発現の影響、および血管内腔傷害後の新生内膜形成における calcineurin の経路の役割を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. calcineurin A の constitutively active mutant を発現するアデノウイルスベクター AdCalA Δ C のラット培養平滑筋細胞に感染により、MCP-1 mRNA の発現は、AdGFP によるコントロール感染に比べ有意に増加した。
2. angiotensin II 刺激により血管平滑筋 MCP-1 mRNA の発現は有意に増加し、cyclosporin A (CyA) の投与によりこの増加は有意に抑制された。
3. 2644bp の MCP-1 promoter 領域を組み込んだレポータープラスミドの血管平滑筋細胞への transfection により promoter 活性を検討したところ、CalA Δ C の同時発現によっても MCP-1 promoter 活性は変化しなかった。
4. actinomycin D 投与により MCP-1 mRNA 安定性を検討したところ、AdCalA Δ C 感染下での mRNA の半減期は AdGFP 感染下に比べ延長がみられた。また angiotensin II 刺激によっても MCP-1 mRNA は安定化され、CyA 前投与により安定化の効果は抑制された。
5. AdCalA Δ C または AdGFP を感染させた血管平滑筋細胞の培養液中の MCP-1 蛋白濃度を測定したところ、AdCalA Δ C 感染した細胞で AdGFP 感染に比べ MCP-1 蛋白発現の有意な増加がみられた。angiotensin II 刺激でも MCP-1 蛋白発現は有意に増加し、この増加は CyA の前投与で完全に抑制された。
6. ラットの大腿動脈内腔をワイヤで傷害したモデルを用いて calcineurin 依存性の経路の in vivo における役割を検討したところ、血管壁での MCP-1 mRNA 発現、新生内膜形成、マクロファージの浸潤は CyA (10mg/kg/

目) の投与により有意に抑制された。

以上、本研究では calcineurin の強制発現により血管平滑筋細胞で MCP-1 の mRNA および蛋白の発現が増加することを明らかにした。また内因性 agonist である angiotensin II によっても calcineurin を介する経路により MCP-1 発現が活性化されることを示した。そしてその機序として、calcineurin は少なくとも一部は mRNA 安定化の機序を介して MCP-1 の発現を増加させる可能性を示した。また in vivo においても、calcineurin 依存性の血管壁 MCP-1 mRNA の発現増加、およびマクロファージの浸潤を介して血管内腔傷害後の新生内膜形成が促進される可能性を示唆した。本研究は、これまで未知であった血管平滑筋細胞における MCP-1 発現促進という機序を介して、calcineurin が動脈硬化や angioplasty 後再狭窄など血管炎症性疾患の発症・進展に寄与する可能性を示すものであり、学位の授与に値するものと考えられる。