

## 論文の内容の要旨

論文題目      The Signaling Pathway Controlling Microvascular  
Permeability

和訳      微小血管透過性を担うシグナリング経路の研究

指導教官      名川 弘一 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名： 于 澎

### 背景と目的

血管透過性の亢進は炎症反応を構成する重要な要素のひとつであるが、微小循環の透過性を制御するシグナリング伝達については十分に解明されていない。Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) シグナリング経路は、さまざまな生物学的な反応を制御している重要な経路のひとつである。現在、MAPK のスーパーファミリーとして Extracellular signal-regulated protein kinases (ERKs), c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinases (JNK)、p38 MAP kinases などが知られている。これらは、チロシンおよびスレオニン残基のリン酸化により活性化される。さまざまな種類の細胞において、PAF により、MAPK が活性化されることが確認されている。

さらに重要なシグナリング経路のひとつとして protein tyrosine kinases (PTKs)経路があげられ、微小循環の透過性との関与も指摘されている。PTK は、リセプター型と非リセプター型に分けられ、しばしば ERK の活性化に関与することが多種類の細胞で確認されており、また p38 MAPK を活性化することも報告されている。血小板活性化因子 PAF (Platelet-activating factor) は、強力な炎症のメディエーターとして、組織の微小循環透過性の亢進をひきおこすことが知られている。PAF のリセプターは G protein coupled receptor のひとつであり、このシグナリング伝達に PTKs のなかで Src family tyrosine kinases が関与すると報告されている。本研究では、Src family tyrosine kinases が微小循環透過性に関与するかどうかを、これまで行われていない in vivo で検討するとともに、MAPK のうち、p42/44 (ERK1/2)や p38 MAPK が PAF のシグナリング経路で果たす役割について検討することを目的とした。

## 研究方法

マウス腸間膜モデルを作成後、局所の安定のため蛍光生体顕微鏡下で 1 時間安静とした。高分子トレーサーとして FITC-dx 70 を持続静注し、蛍光生体顕微鏡でとりこんだ腸間膜の画像のなかで任意に細静脈を含む部位を選んで、コンピューターにて interstitial integrated optical intensity (IOI)を測定し、微小循環の透過性を定量化した。コントロール群は PAF のみを腸間膜に局所投与したもので、これと PAF 投与前後にわたって MAPK 阻害薬(AG126 or SB203580)または Src キナーゼ阻害薬(PP2)のいずれかを併用した群とで透過性の変化を比較した。次に、同様の in vivo モデルで PAF 投与前後の腸間膜脂肪織を採取し、ERK1/2

および p38 MAPK の活性化の時間的経過を Western Blotting 法により検討した。

## 結果

1. コントロール群において、PAF 投与後著明な微小循環透過性の亢進がみられた。
2. この PAF による透過性の亢進は、ERK1/2 の阻害剤である AG126 によって、有意に抑制された。
3. 同様に PAF による透過性の亢進は、p38 MAPK の阻害剤である SB203580 でも、有意に抑制された。
4. PAF 投与前に ERK1/2 はすでに活性化されており、PAF 投与後 40 分でさらに有意に活性が増強されていた。
5. p38 MAPK は PAF 投与前には活性化されておらず、PAF 投与後すみやかに (10 分後より) 活性化されていた。
6. PAF による透過性の亢進は、PTK のひとつである Src キナーゼの阻害剤 PP2 によって、有意に抑制された。

## 結論

ERK1/2, p38 MAPK および Src family tyrosine kinases は、PAF による微小循環透過性の亢進をつかさどるシグナリング経路に関与することが *in vivo* で示された。