

[課程— 2]

審査の結果の要旨

氏名 西本 光宏

本研究はストア依存性 Ca^{2+} 流入関連タンパクとしての役割が解明されつつある STIM1 が血管内皮細胞において血管内皮機能調節に及ぼす影響に対する解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ウシ大動脈血管内皮細胞に STIM1 が存在することがウェスタンブロッティング法および免疫蛍光染色により示された。TagRFP 融合 STIM1 を発現させてストア内 Ca^{2+} 枯渇刺激を行うと、STIM1 は速やかにその細胞内分布を変化させ、clustering による点状構造 (puncta) 分布に変化した。
2. プラスミドによる STIM1 過剰発現および siRNA によるノックダウンを行った細胞では、ストア依存性 Ca^{2+} 流入はそれぞれ約 30% の増加・95% 以上の減少を認めた。したがって STIM1 の発現量は血管内皮細胞においてもストア依存性 Ca^{2+} 流入の大きさを制御していると考えられた。
3. カルシウムアドバックによるストア依存性 Ca^{2+} 流入により活性化 eNOS が増加したが、STIM1 のノックダウンを行った細胞ではこの eNOS の活性化が約 70% 抑制された。さらに VEGF による刺激でも同様に STIM1 ノックダウン細胞では eNOS の活性化が抑制された。ストア依存性 Ca^{2+} 流入の抑制剤である 2-APB、細胞内 Ca^{2+} キレート剤である BAPTA-AM を前投与した細胞でも同様に eNOS 活性化の抑制が認められた。
4. STIM1 ノックダウン細胞ではカルシウムアドバックによるストア依存性 Ca^{2+} 流入による NO 産生がコントロールの 20% まで抑制された。したがって STIM1 は血管内皮機能に重要な役割を果たしている NO 産生を Ca^{2+} シグナルを介して調節していることが明らかになった。
5. $\text{TNF}\alpha$ による NF κ B 活性化をルシフェラーゼアッセイによって評価したところ、STIM1 ノックダウン細胞では NF κ B 活性化がコントロールの 30% まで抑制された。以上より STIM1 が $\text{TNF}\alpha$ による血管障害刺激に対して促進的に働いている可能性が示された。

以上、本論文はストア依存性 Ca^{2+} 流入関連タンパク STIM1 が血管内皮細胞においてその機能を多面的に修飾することを明らかにした。本研究は血管内皮機能調節の機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。