



Title	Drastic Shift From Positive to Negative Estrogen Effect on Bone Morphogenetic Protein Signaling in Pulmonary Arterial Endothelial Cells Under Hypoxia
Author(s)	Ichimori, Hiroaki
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/26293">https://hdl.handle.net/11094/26293</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

### Synopsis of Thesis

〔論文題名 : Thesis Title〕

Drastic Shift From Positive to Negative Estrogen Effect on Bone Morphogenetic Protein Signaling in Pulmonary Arterial Endothelial Cells Under Hypoxia

(肺動脈内皮細胞においてBMPシグナルに対するエストロゲンの影響は酸素濃度により正から負に逆転する)

専攻名 : 内科系臨床医学専攻  
Division

学位申請者 : 市森 裕章  
Name

〔目的(Purpose)〕

肺動脈性肺高血圧症(PAH)の発症は思春期以降の女性で有意に多いという疫学的事実が存在する。今回我々は、肺動脈内皮細胞(PAEC)を用い、PAHの原因遺伝子の一つであるBone Morphogenetic Protein(BMP)シグナルに対するestrogenの影響を解析することで、上記の疫学を検証することとした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒト肺動脈内皮細胞(HPAEC)を用い、21%もしくは1%酸素(O<sub>2</sub>)濃度で12時間培養した。引き続きBMP2製剤、 $\beta$ -estradiol(E<sub>2</sub>)、estrogen receptor (ER) antagonistであるICI 182,780、を投与し12時間培養後、BMPシグナル関連分子(リン酸化 Smad(p-Smad)1/5/8蛋白、Id1 mRNA)の変化を、Western blot法、リアルタイムRT-PCR法を用いて検討した。

21%酸素(O<sub>2</sub>)下での培養では、estradiol(E<sub>2</sub>)はPAEC内でのBMPシグナルを増強するが、反対に1%O<sub>2</sub>下では、E<sub>2</sub>はBMPシグナルを減弱させ、これらの発現変化はICI 182,780の投与により阻害された。また、1%O<sub>2</sub>下でHIF(hypoxia-inducible factor)-1 inhibitorを投与するとE<sub>2</sub>はBMPシグナルを増強し、21%O<sub>2</sub>下でHIF-1 $\alpha$ を強制発現させるとE<sub>2</sub>はBMPシグナルを減弱させた。

また、21%O<sub>2</sub>下の培養において、estrogen response elementを用いたreporter assayでは、E<sub>2</sub>を添加することによるestrogen転写活性は21%O<sub>2</sub>下でのみ有意に上昇した。また、cycloheximideを投与しestrogenの翻訳を阻害すると、p-Smad1/5/8蛋白の増加が阻害された。

一方、1%O<sub>2</sub>下の培養において、E<sub>2</sub>を添加することで、核内でp-Smad1/5/8、estrogen receptor(ER)、HIF-1 $\alpha$ が結合することを免疫沈降法により観察した。

〔総括(Conclusion)〕

21%O<sub>2</sub>下、つまりHIF-1 $\alpha$ が分解されている環境下では、E<sub>2</sub>-ERの結合により産生される新生タンパクを介してp-Smad1/5/8の核内移行が促進され、BMPシグナルが増強することが考えられた。一方、1%O<sub>2</sub>、つまりHIF-1 $\alpha$ が発現している環境下では、ER/HIF-1 $\alpha$ が、核内移行したp-Smad1/5/8と複合体を形成することでBMPシグナル伝達を阻害することが考えられた。*in vitro*において、estrogenがHPAEC内のBMPシグナル調節に、酸素濃度あるいはHIF-1 $\alpha$ の発現の有無により異なるメカニズムで関与することが明らかとなった。このことは、PAHに存在する性差を説明する上で重要な役割を果たす一つになるものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		市森 裕章	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	木 蘭 東 一
	副 査	大阪大学教授	瀧 保 子
	副 査	大阪大学教授	木 戸 正

論文審査の結果の要旨

肺動脈性肺高血圧症(PAH)は思春期以降の女性で有意に多く発症するという疫学的事実を証明する報告は、これまでほとんど認めない。市森らは、肺動脈内皮細胞を用いた研究で、PAH発症に関与する原因遺伝子であるBone Morphogenetic Protein(BMP)シグナルに対するエストロゲンの影響とそのメカニズムを検討した。通常酸素環境下では、エストロゲンはそのシグナル伝達によって生じる新生蛋白が働きかけることによりBMPシグナル伝達を増強させるものの、低酸素環境下では、BMPシグナルの下流分子であるリン酸化Smad1/5/8、エストロゲン受容体らの蛋白同士が直接的な結合することで、BMPシグナル伝達を阻害することを明らかにした。つまり、肺動脈内皮が低酸素環境に曝露された場合は、エストロゲンはPAHの増悪因子になりうる可能性を証明し、PAH発症機構の一端を発見することに寄与した。

よって学位の授与に値すると考えられる。