



Title	Selective Induction of Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor by Methylglyoxal and 3-Deoxyglucosone in Rat Aortic Smooth Muscle Cells
Author(s)	車, 文一
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40778
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	車 文 一
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学 位 記 番 号	第 13682 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Selective Induction of Heparin-binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor by Methylglyoxal and 3-Deoxyglucosone in Rat Aortic Smooth Muscle Cells (ラットの平滑筋細胞におけるメチルグリオキサールと3-デオキシグルコソーンによるヘパリン結合性EGF様増殖因子の発現誘導とその機序)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷口 直之
	(副査) 教 授 高井 義美 教 授 中村 敏一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

平滑筋細胞の増殖と遊走は動脈硬化の一因である。血管平滑筋細胞に対して強い増殖及び遊走促進を示すヘパリン結合性EGF様増殖因子(HB-EGF)や血小板由来増殖因子(PDGF)などの増殖因子は動脈硬化症と深い関わりを持っていると考えられている。一方、メチルグリオキサール(MG)は反応性に富んだ α , β -dicarbonyl化合物でありグリオキサラーゼシステムの生理的基質であり、その大部分が三炭糖リン酸の非酸素的断片化により生じる。3-デオキシグルコソーン(3-DG)はグリケーションの後期段階に生じる。MGおよび3-DGの血清中濃度は糖尿病、特にケトアシドーシスの血液中で増加すると言われており、糖尿病合併症との関連が示唆されている。今回MGと3-DGの動脈硬化症に及ぼす役割を詳しく知るために、ラット大動脈平滑筋細胞(RASMC)を用いて、そのHB-EGF及びPDGFの発現に与える影響とその機序を検討した。

【方法】

1. RASMCにおけるHB-EGF, PDGFmRNAの発現をノーザンプロット法にて検討した。
2. EGFレセプターリガンド依存性細胞株(EP170.7)のDNA合成促進活性を指標として、培養上清中のHB-EGF増殖活性を測定した。
3. Methylglyoxalの細胞内への取込みは [14 C] Methylglyoxalを含む培地でRASMCを培養して細胞質の放射線量を指標として測定した。
4. 核run-offアッセイでdicarbonyl化合物によるRASMCのHB-EGFmRNAの転写量を測定した。
5. 細胞内過酸化物の産生を過酸化物に感受性の蛍光色素である2',7'-dichloro-fluorescin diacetateを用いてフローサイトメトリーにて検討した。

【成績】

1. MGと3-DGによりRASMCにおけるHB-EGFのmRNAの発現は濃度及び時間依存的に上昇し、培養上清中の増殖活性も著明に増加しており、その増殖活性はanti-rat HB-EGF neutralizing antibody^{#19}で抑制された。しかし、PDGFでは変化を認めなかった。

2. [¹⁴C] Methylglyoxal を含む培地で RASMC を培養すると、培養上清中の methylglyoxal は11%減少し、細胞内の methylglyoxal は1.8%増加した。

3. HB-EGF mRNA の発現増加は actinomycinD により抑制され、また、核 run-off アッセイにて MG と 3-DG による HB-EGF mRNA の転写の増加が認められた。Cycloheximide は MG による HB-EGF mRNA の発現の増加に影響を与えたなかったが、3-DG による発現をさらに増加した。

4. MG と 3-DG により、HB-EGF mRNA の発現の増加に先行して、細胞内過酸化物が増加した。抗酸化剤である N-acetyl-L-cysteine とジカルボニルの消去剤である Aminoguanidine は MG と 3-DG による細胞内過酸化物の増加と HB-EGF mRNA の誘導を抑制した。Buthionine sulfoximine は MG による HB-EGF mRNA の発現の増加に影響を与えたなかったが、3-DG による発現をわずかに増加した。

5. 過酸化水素の添加により HB-EGF mRNA の誘導が確認された。

6. MG と 3-DG は TPA で RASMC の protein kinaseC を downregulation した後も、HB-EGF の mRNA の発現を増加した。

【総括】

Methylglyoxal と 3-deoxyglucosone はラット大動脈平滑筋細胞において細胞内過酸化物を増加させることによって HB-EGF を誘導した。Protein kinaseC は MG と 3-DG による RASMC の HB-EGF の誘導に関与しなかった。これらの結果により MG および 3-DG が HB-EGF を上昇させることによって糖尿病性血管合併症の発症あるいは進展に関与していることが考えられた。

論文審査の結果の要旨

反応性に富んだジカルボニル化合物であるメチルグリオキサール (MG) と 3-デオキシグルコソーン (3-DG) は動脈硬化症など糖尿病合併症との関連が示唆されているがその影響と機序については殆どわかっていない。申請者はそれらのジカルボニル化合物と血管平滑筋細胞に対して強い増殖作用を示すヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (HB-EGF) の関係に注目して、ラットの大動脈平滑筋細胞を用いて MG と 3-DG による HB-EGF の誘導とその機序を検討した。その結果、MG と 3-DG は平滑筋細胞の細胞内過酸化物を増加し、HB-EGF を誘導した。抗酸化剤である N-acetyl-L-cysteine とジカルボニルの消去剤である Aminoguanidine は MG と 3-DG による細胞内過酸化物の増加と HB-EGF mRNA の誘導を抑制した。また、過酸化水素の添加による HB-EGF mRNA の誘導も確認された。この結果より MG と 3-DG は平滑筋細胞において細胞内過酸化物を増加させることによって HB-EGF を誘導することを明らかにした。このことは糖尿病性血管合併症の発症及び進展の原因を考える上で大変興味深い。本研究はこれからの糖尿病合併症の研究の方向性にも与えるものであり、博士（医学）の学位を授与に値するものと認める。