The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Interleukin-2 modulates the responsiveness to angiotensin Ⅱ in cultured vascular smooth muscle cells
Author(s)	名畑, 孝
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40991
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

【 66 】

氏　　名	名畑　孝（なばた　たかし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　13466　号
学位授与年月日	平成9年12月4日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Interleukin-2 modulates the responsiveness to angiotensin II in cultured vascular smooth muscle cells （血管平滑筋細胞におけるインターロイキン2によるアンジオテンシンIIに対する反応性の増強作用に関する研究）
論文審査委員	（主査） 教授　荻原　俊男 （副査） 教授　松澤　佑次　　教授　堀　正二

論文内容の要旨

［目的］ 心血管イベントの発症においては血管の狭窄の程度よりもプラークの不安定化，すなわち，プラーク破壊が重要であると考えられている。プラークの破壊の機序は十分明らかではないか，血管の異常収縮，リモデリング，アポトーシス，脂質の沈着などが関与している可能性が報告されている。また，病理学的検討から，不安定狭心症患者においては，安定狭心症患者のプラークよりマクロファージやT細胞などの炎症細胞の浸潤が多く認められることが明らかにされ，これらの細胞から産生されるサイトカインの役割が注目されている。アンジオテンシンIIは血管収縮作用だけでなく，血管平滑筋細胞の増殖，肥大を促進する作用を有するが，最近，動脈硬化巣の血管壁においてアンジオテンシン変換酵素の活性が亢進していることが明らかにされ，血管壁におけるレニン，アンジオテンシン系の亢進が動脈硬化巣の進展に関与している可能性がある。本研究の目的は，T細胞から産生されるインターロイキン2が血管平滑筋細胞におけるアンジオテンシンIIに対する反応性にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることである。

［方法］

1．細胞培養：血管平滑筋細胞（VSMC）はラット胸部大動脈あるいはヒト大腿動脈から explant 法によって単離培養した。

2．細胞内カルシウム（$[Ca^{2+}]_i$）の測定：Ca^{2+} の蛍光指示薬である fura 2 を用いて蛍光顕微鏡によって測定した。

3．細胞増殖の測定：[^{3}H]-thymidine の取り込みを指標とした。

4．グリコサミノグリカン（GAG）合成：[^{35}S]sulfate の取り込みを指標とした。

5．プロスタサイクリン（PGI_2）の測定：代謝産物である 6-keto $PGF1_\alpha$ を RIA で測定した。

［成績］

1．インターロイキン2（IL-2）は単独では $[Ca^{2+}]_i$ の基礎値に影響を及ぼさなかったが，AII による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇作用を時間および濃度依存性に増強した。しかし，この増強作用は細胞外 Ca^{2+} 非存在下では認められず，protein tyrosine kinase（PTK）の阻害剤 genistein で抑制されたことから，IL-2 は PTK の活性化を介して AII による細胞

外からの Ca^{2+} 流入を促進することが示唆された。また，IL-2 の増強作用は AII の低濃度においてのみ認められ，AII による最大の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇をさらに増強することはなかった。これらの事実は IL-2 を産生するT細胞が集簇しているプラークにおいては AII による血管収縮が増強される可能性を示している。

2．IL-2 は単独では VSMC における DNA 合成に影響を及ぼさなかったが，AII による DNA 合成促進作用を増強した。この増強作用は genistein によって完全に抑制されたが，heparin binding EGF-like growth factor (HB-EGF) に対する中和抗体によっても部分的に抑制されたことから，PTK の活性化と共に HB-EGF の産生を介した機序も関与していることが示唆された。また，この IL-2 による DNA 合成増強作用は $[Ca^{2+}]_i$ 対する増強作用と同様，AII の最大効果をさらに増強することはなかった。

3．IL-2 は細胞外マトリックス成分である GAG 合成を単独で促進したが，AII による GAG 合成の促進作用も増強した。この作用はプロスタグランディンの合成阻害剤であるインドメタシンによって完全に抑制されたことより，この増強作用はプロスタグランディンの産生を介していることが示唆された。実際，IL-2 は単独で VSMC における PGI_2 の産生を促進したが，AII による PGI_2 の産生促進作用も増強した。細胞外マトリックス成分であるグリコサミノグリカンは低比重リポ蛋白（LDL）と結合することから，IL-2 および AII によって産生が亢進されたグリコサミノグリカンは血管壁への脂質の沈着を促進することが予想される。

［総括］

IL-2 は VSMC における AII に対する反応性を増強することを明らかにした。T細胞は動脈硬化巣に多数集簇していることから，T細胞から産生される IL-2 は AII の作用を増強することによって動脈硬化の進展，特にプラークの不安定化の機序に関与する可能性がある。

論文審査の結果の要旨

本研究は動脈硬化巣に存在が確認されているT細胞，マクロファージから産生されるインターロイキン2（IL-2）の意義を明らかにする目的で行われている。心血管イベントの発症においては血管の狭窄の程度よりもプラークの不安定化，すなわち，プラーク破壊が重要であると考えられている。プラークの破壊の機序は十分明らかではないが，血管の異常収縮，リモデリング，アポトーシス，脂質の沈着などが関与している可能性が報告されている。また，病理学的検討から，不安定狭心症患者においては，安定狭心症患者のプラークよりマクロファージやT細胞などの炎症細胞の浸潤が多く認められることが明らかにされ，これらの細胞から産生されるサイトカインの役割が注目されている。一方，アンジオテンシンII（AII）は血管収縮作用だけでなく，血管平滑筋細胞の増殖，肥大を促進する作用を有するが，最近，動脈硬化巣の血管壁においてアンジオテンシン変換酵素の活性が亢進していることが明らかにされ，血管壁におけるレニン，アンジオテンシン系の亢進が動脈硬化巣の進展に関与している可能性がある。このことから AII の血管平滑筋作用に対する IL-2 の反応性を，細胞内カルシウム濃度（$[Ca^{2+}]_i$），DNA 合成，グリコサミノグリカン（GAG）産生の3点において解析した。まず，IL-2 は単独では $[Ca^{2+}]_i$ の基礎値に影響を及ぼさなかったが，AII による $[Ca^{2+}]_i$ 上昇作用を時間および濃度依存性に増強することを示した。しかし，この増強作用は細胞外 Ca^{2+} 非存在下では認められず，protein tyrosine kinase（PTK）の阻害剤 genistein で抑制されたことから，IL-2 は PTK の活性化を介して AII による細胞外からの Ca^{2+} 流入を促進することを示唆した。また，IL-2 の増強作用は AII の低濃度においてのみ認められ，AII による最大の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇をさらに増強することはなかった。これらの事実より IL-2 を産生するT細胞が集簇しているプラークにおいては AII による血管収縮が増強される可能性を示した。次に，IL-2 は単独では VSMC における DNA 合成に影響を及ぼさなかったが，AII による DNA 合成促進作用を増強した。この増強作用は genistein によって完全に抑制されたが，heparin binding ECF-like growth factor（HB-EGF）に対する中和抗体によっても部分的に抑制されたことから，PTK の活性化と共に HB-EGF の産生を介した機序も関与していることを示唆した。また，この IL-2 による DNA 合成増強作用は $[Ca^{2+}]_i$ 対する増強作用と同様，AII の最大効果をさら

に増強することはなかった。さらに，IL-2 は細胞外マトリックス成分である GAG 合成を単独で促進したが，AII による GAG 合成の促進作用も増強した。この作用はプロスタグランディンの合成阻害剤であるインドメタシンによって完全に抑制されたことより，この増強作用はプロスタグランディンの産生を介していることを示唆した。実際，IL-2 は単独で VSMC における PGI_2 の産生を促進したが，AII による PGI_2 の産生促進作用も増強した。以上のごとく本研究はT細胞から産生される IL-2 が AII の作用を増強することによって動脈硬化の進展，特にプラークの不安定化の機序に関与する可能性を示唆し，動脈硬化症の発症機序に新たな視点を提示したものである。したがって本研究は学位授与に値すると認める。