



Title	Signal Transducer and Activator of Transcription 3 is Required for gp130-mediated Induction of Vascular Endothelial Growth Factor in Cardiac Myocytes
Author(s)	船本, 全信
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42577
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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	船本全信
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16061号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科社会系専攻
学位論文名	Signal Transducer and Activator of Transcription 3 is Required for gp130-mediated Induction of Vascular Endothelial Growth Factor in Cardiac Myocytes (gp130の活性化はSTAT3を介して血管内皮増殖因子(VEGF)の発現を誘導する)
論文審査委員	(主査) 教授 吉崎 和幸 (副査) 教授 多田 道彦 教授 荻原 俊男

論文内容の要旨

【目的】

gp130を介する情報伝達系は、in vitroにおいて心筋細胞肥大および細胞死抑制作用を示し、in vivoにおいても、gp130持続的活性型マウスは心肥大を、gp130欠損マウスは心筋低形成をきたす。さらにgp130の心臓特異的欠損マウスは出生及び成長においては正常マウスと同様であるが、大動脈縮窄による急性圧負荷モデルで、拡張型心筋症様病変を呈する。つまり、この情報伝達系が心臓の発生だけでなく、種々の外的ストレスに対する適応(リモデリング)においても重要な役割を果たしていると考えられた。

一方、血管内皮増殖因子(VEGF)は血管の発生分化に必須であるが、そのヘテロ欠損マウスで心臓低形成を伴う胎生期致死を来すだけでなく、アイソフォーム164と188の欠損マウスでは虚血性心筋症様病変を来す。同様に血管平滑筋の構成分子であるデルタサルコグリカンの欠損マウスでは、血管の形成不全から心不全を来す。

つまり、心臓の発生や適応過程としての心肥大には、単に心筋細胞が肥大するのみでなく細胞周囲の環境も整う必要があると考えられる。腫瘍はその増大過程において血管新生を必要とし、組織の損傷治癒機転においても同様に血管新生を必要とする。

これらを考えあわせると、心肥大においても血管新生は重要な役割を果たしている可能性が考えられるが、肥大に伴う血管新生に関して未だ報告はない。本研究では心筋細胞においてgp130を介する血管新生因子(VEGF)のmRNA・蛋白の発現に及ぼす影響とその情報伝達機構を解明し、その臨床的意義を検討することを目的とした。

【方法】

(A) gp130の活性化によるVEGF発現誘導機構の解析 (in vitro)

gp130のリガンドである白血病阻害因子(LIF)、cardiotrophin-1(CT-1)で培養心筋細胞を刺激しVEGFがmRNA、蛋白レベルで発現増強することを確認する。またその発現増強にSTAT3が必要であることを、アデノウイルスベクターを用いて不活性型STAT3を心筋細胞に導入し証明する。

(B) in vivoモデルでの解析

1) gp130の活性化によるVEGF発現誘導の生体心における検討

8週令のDDYマウスの尾静脈よりLIFを投与し、心臓におけるVEGFmRNAの発現増強の有無について確認する。

2) 心筋特異的不活性型及び野生型STAT3 トランスジェニックマウス (dnSTAT3/wtSTAT3-TGマウス) を用いた検討

α -ミオシン重鎖遺伝子プロモーターの下流に、不活性型または野生型 STAT3 (dnSTAT3/wtSTAT3) cDNA を組み込み、心筋特異的に過剰発現させたトランスジェニックマウスを作成し、心臓での VEGF 発現抑制または増強を確認し、in vivo においても VEGF の発現増強に gp130/STAT3 の活性化が重要であることを確認する。

【結果】

(A) in vitro における解析

- 1) VEGF mRNA の発現；培養心筋細胞を LIF で刺激したところ時間・濃度依存的に VEGF mRNA の発現が増強された。同様に CT-1 でも発現が増強された。心臓由来の線維芽細胞では LIF 刺激により VEGF mRNA の発現増強は認められず、この反応は心筋細胞特異的と考えられた。
- 2) VEGF 蛋白の検出；培養心筋細胞を LIF で刺激し、培養上清中の VEGF 蛋白を ELISA 法により測定したところ、濃度依存的に上清中の VEGF 蛋白が増加し、心筋細胞における産生が増加したと考えられた。CT-1 でも同様に増加が認められた。
- 3) VEGF 発現増強に関わる情報伝達系；gp130の下流には JAK/STAT、PI-3 kinase、MAPkinase が存在しているが、この LIF による VEGF の発現増強は PI-3 kinase 阻害薬 (wortmannin) および MEK-1 阻害薬 (PD98059) では抑制されず、JAK/STAT 系を介する転写調節が重要と考えられた。そこで、dnSTAT3 をアデノウィルスにより培養心筋細胞に強制発現させると、LIF による VEGF の発現は mRNA・蛋白レベルで抑制された。

(B) in vivo における解析

- 1) gp130の活性化による VEGF 発現誘導の生体心における検討；LIF の経静脈的投与によりマウス心臓において VEGF mRNA の発現増強が時間依存性に観察された。
- 2) dnSTAT3 及び wtSTAT3-TG マウスを用いた検討；STAT3 による VEGF の発現増強が生体心においても機能しているかについて検討するため、dnSTAT3-TG マウスを作成した。その心臓において、VEGF mRNA 発現の低下に加え、LIF による反応低下が認められた。さらに、wtSTAT3-TG マウスを作成し、心臓における VEGF 蛋白を ELISA 法により定量したところ発現増強を示し、LIF 投与により有意な増加を認めた。このことから、生体心においても STAT3 を介して VEGF の発現が制御されていると考えられた。

【総括】

gp130の活性化は STAT3 を介して、心筋の肥大シグナルを伝えることが知られているが、今回新たな知見として、VEGF の発現を誘導し心臓における血管新生を促進し、心筋リモデリングに細胞内及び細胞外から深く関わっている可能性が示唆された。今後、心臓においてこの情報伝達系が果たす役割を明らかにするため、dnSTAT3-TG マウスを用いて圧負荷、虚血、虚血再灌流、ウィルス感染、心毒性薬剤など種々の心負荷モデルを作成する。正常マウス群に比し、dnSTAT3-TG マウス群で有意に心不全が発症し、STAT3 を心筋に強制導入することで心不全が改善された場合、細胞内外から心筋を賦活化する新たな心不全の治療法になりうると考えられた。

論文審査の結果の要旨

gp130を介する情報伝達系は、in vitro では心筋肥大作用と細胞保護作用を示し、in vivo では心臓の発生、成長さらに種々の外的ストレスに対する適応において重要であると報告されている。一方、心臓の血管形成不全による形成不全、心筋症発症も報告され、適応、成長過程における心肥大と血管新生は密接な関係があると考えられる。しかし、現在まで肥大に伴う血管新生に関して未だ報告はない。

本研究では gp130の活性化は心筋細胞における血管新生因子 (VEGF) の mRNA・蛋白の発現を増強し、またその転写調節に STAT3 が重要であることを初めて明らかにした。さらに心筋特異的に不活性型 STAT3 または野生

型 STAT3 を過剰発現させたトランスジェニックマウスを作製し生体においてもこのシステムが働いていることを証明した。今後このトランスジェニックマウスを用いた心不全モデルに STAT3 を心筋に強制導入することで、細胞内外から心筋を賦活化する新たな心不全の治療法になりうると考えられた。以上より、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。