

Title	Vascular Smooth Muscle Maintains the Levels of Bcl-2 in Endothelial Cells
Author(s)	畑, 茂樹
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42693">https://hdl.handle.net/11094/42693</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	畑 茂 樹
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 15744 号
学位授与年月日	平成12年10月13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	Vascular Smooth Muscle Maintains the Levels of Bcl-2 in Endothelial Cells (内皮細胞における血管平滑筋細胞による Bcl-2の発現維持機構)
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男  (副査) 教授 金田 安史 教授 辻本 賀英

### 論文内容の要旨

#### 【背景と目的】

アポトーシスは、生体にとって不要になった細胞を取り除くための生理機構であるが、血管系においてもその恒常性維持に重要な役割を果たしている。しかし、注目すべきことに、酸化LDLなどの動脈硬化促進因子は内皮細胞にアポトーシスを誘導し、エストロゲンなどの抗動脈硬化因子は内皮細胞のアポトーシスを抑制することが報告されている。したがって、内皮細胞のアポトーシスは動脈硬化の発症機構に関与する可能性がある。逆に言えば、動脈硬化促進因子による内皮細胞のアポトーシスを抑制することができれば動脈硬化の発症を予防できる可能性があると考えられる。しかし、内皮細胞におけるアポトーシス調節機構は未だ明らかではない。本研究は、血管系における内皮細胞のアポトーシス調節機構を明らかにする目的で、血管平滑筋細胞が内皮細胞のアポトーシス誘導機構に対してどのような役割を果たすかを検討した。

#### 【方法】

内皮細胞と血管平滑筋細胞は各々の単独培養および細胞間接触を持たない共存培養を行った。NO産生は培養液中のNO<sub>2</sub>をGriess法を用いて測定した。アポトーシスはAPO-BRDU™ kitを用いフローサイトメトリー法で測定した。免疫組織染色にはABC法を用いた。アポトーシス抑制蛋白Bcl-2およびアポトーシス促進蛋白BaxはFITCラベルした抗Bcl-2抗体および抗Bax抗体を用いてフローサイトメトリー法で測定した。内皮細胞へのbcl-2 cDNAの導入はelectroporation法を用いた。

#### 【結果】

- 1) 大量のNOは内皮細胞にアポトーシスを誘導した。このNOによるアポトーシスの誘導は内皮細胞特異的増殖因子vascular endothelial growth factor (VEGF)によって一部抑制された。
- 2) 内皮細胞におけるBcl-2蛋白の発現はNOによって低下したが、VEGFはNOによるBcl-2蛋白の低下を一部回復させた。一方、Bax蛋白の発現はNOによって上昇したがVEGFはこのNOによるBaxの発現レベルの上昇を一部抑制した。
- 3) 次に、血管平滑筋細胞を共存培養すると、興味深いことに内皮細胞におけるNOによるBcl-2の発現低下やアポトーシスの誘導が完全に抑制された。また、これらの血管平滑筋細胞による抗アポトーシス効果はVEGFに対する中和抗体により一部解除された。

4) さらに、内皮細胞に *bcl-2* を強制発現させると大量の NO によるアポトーシスの誘導が抑制された。

#### 【総括】

本研究は、内皮細胞の抗アポトーシス機構における血管平滑筋細胞の重要性を明らかにした。すなわち、血管平滑筋細胞が可溶性因子を介して近傍の内皮細胞における抗アポトーシス蛋白である Bcl-2 レベルを維持すること、またこの結果、内皮細胞が NO を介したアポトーシスに対して抵抗性を獲得すること、さらに、可溶性因子の一つとして VEGF が関与することを明らかにした。最近、不安定プラークにおいては脂質の沈着やマクロファージなどの炎症細胞浸潤のほか血管平滑筋細胞の数が減少していることが明らかにされていることから、これらのプラークにおいては内皮細胞が NO を介したアポトーシスに対して感受性が亢進していることが推察される。したがって本研究は、プラークの不安定化の機序を考える上で重要な知見を与えると考える。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、内皮細胞の抗アポトーシス機構における血管平滑筋細胞の重要性を明らかにしたものである。すなわち、血管平滑筋細胞は可溶性因子を介して近傍の内皮細胞における抗アポトーシス蛋白 Bcl-2 レベルを維持することによって NO を介したアポトーシスに対して抵抗性を獲得させること、さらに、可溶性因子の一つとして VEGF が関与することを明らかにしている。心筋梗塞などの心血管イベントの発症機構は未だ明らかではないが、最近、心血管イベントを発症したプラークにおいては脂質の沈着やマクロファージなどの炎症細胞浸潤のほか血管平滑筋細胞の数が減少していること、さらに、酸化ストレスや NO などのフリーラジカルが過剰に産生されていることが報告されている。本研究は、血管平滑筋細胞の数が減少しているプラークにおいては内皮細胞における抗アポトーシス蛋白 Bcl-2 レベルが低下し、さまざまなアポトーシス誘導機構に対して内皮細胞の感受性が亢進している可能性を示しており、心血管イベント発症の機序を考える上で重要な知見を与えられる。