The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Cardiac-specific Activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Promotes Vascular Formation in the Heart |
| Author(s) | 大杉, 友顕 |
| Citation | 大阪大学, 2002, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/43810 |
| 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">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

【56】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 大杉友顕（おおすぎともあき） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（医　学） |
| 学位記番号 | 第　16853　号 |
| 学位授与年月日 | 平成14年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科分子病態医学専攻 |
| 学位論文名 | Cardiac-specific Activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Promotes Vascular Formation in the Heart<br>（STAT3は心臓での血管新生に関与する） |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教　授　川瀬　一郎<br>（副査）<br>教　授　荻原　俊男　　教　授　吉崎　和幸 |

## 論文内容の要旨

【目的】

STAT3はinterleukin-6（IL-6）ファミリーのシグナル伝達物質として同定された。IL-6ファミリーレセプターの共通サブユニットであるgp130は、刺激を受けるとJanus kinase（JAK）を活性化し、STAT3をリン酸化する。リン酸化されたSTAT3は細胞質から核内に移行し、遺伝子発現を誘導する。

心筋細胞では、gp130/JAK/STAT3シグナル伝達経路はカテコールアミンや機械刺激といった心肥大シグナルにより活性化されることが報告されている。

心肥大は、様々な心負荷に対する代償的な反応であるが、この時血管新生を伴うことが指摘されている。VEGFは血管新生に関与する増殖因子で、VEGFを心臓特異的にノックアウトしたマウスでは心機能を維持することができないと報告されている。また、我々は心筋細胞にて、STAT3はgp130を介するVEGFの誘導に必要であることを示してきた。

以上より、心筋細胞におけるSTAT3の活性化は心臓における血管新生において重要な役割を担っていると仮定し、その検討を行った。

【方法ならびに成績】

constitutive-active formのSTAT3（caSTAT3）を発現するアデノウイルス（adeno-caSTAT3）、およびコントロールとしてβ-galactosidaseを発現するアデノウイルス（adeno-β-gal）を作製し、新生仔ラット心筋細胞に感染させた。感染後、VEGFのmRNA発現をノーザンブロット法にて調べたところ、adeno-caSTAT3を感染させた心筋細胞にてVEGFのmRNAの発現上昇を認めた。

次に、adeno-caSTAT3およびadeno-β-galを感染させた心筋細胞の培養上清を、HUVEC/fibroblast共培養に加えた。その結果、adeno-caSTAT3を感染させた心筋細胞の培養上清は、adeno-β-galに比べ、血管内皮細胞の管腔形成の促進を認めた。この管腔形成は抗VEGF抗体で抑制された。

in vivoにおけるSTAT3の機能を検討するため、α-Myosin heavy chain promoterを用いて心臓特異的にcaSTAT3を高発現するトランスジェニックマウス（caSTAT3 TG）を作製し、caSTAT TGの心筋においてcaSTAT3が発現していることを確認した。ノーザンブロット法にて、caSTAT3 TGの心臓では、野生型に比べ

VEGF の mRNA の発現上昇を認めた。また、ELISA 法にて、caSTAT3 TG の心臓における VEGF は蛋白レベルでも上昇していることが確認された。

STAT3の in vivo での血管形成への影響を調べるため、caSTAT3 TG および野生型のマウスの心臓における血管密度を、抗 CD31抗体で免疫染色し検討した。その結果、caSTAT3 TG では、野生型に比べ血管密度の上昇を認めた。また、ウエスタンブロット法にて心臓における血管内皮に特異的に発現する VE-cadherin の発現を調べたところ、野生型に比べ caSTAT3 TG で発現上昇を認めた。

【総括】

心筋細胞において、adeno-caSTAT3を感染させると VEGF の発現が上昇した。また、その培養上清は血管新生を誘導し、抗 VEGF 抗体を加えることで抑制された。caSTAT3 TG では心臓で VEGF の発現上昇を認め、血管密度の上昇を認めた。

心肥大という代償的反応において、血管新生は重要であると考えられている。VEGF は血管新生を制御し心機能を維持する過程で、重要な役割をもっていると考えられている。以前、STAT3は gp130を介する VEGF の誘導に必要であるという報告をした。また、心臓特異的に gp130を欠損させたマウスは、心臓に圧負荷をかけると、心不全を起こすことが報告されている。

これらのことから、STAT3は心臓において血管新生に関与することにより、心負荷に対して心機能を維持している可能性がある、すなわち gp130/JAK/STAT3シグナル伝達経路を刺激することにより、心筋細胞は非心筋細胞に相互作用を及ぼす可能性があることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

心肥大は、心臓への負荷に対する代償的な反応の一つであると考えられるが、その時に血管新生を起こすことが知られている。また、心筋細胞では、様々な心肥大シグナルにより、gp130/JAK/STAT3シグナル伝達経路が活性化されることが報告されている。本研究は、STAT3が心筋細胞において VEGF の産生を促し、その結果心臓において血管新生を起こすことを示したものである。

本研究でははじめに、constitutive-active form の STAT3（caSTAT3）を発現するアデノウイルス（adeno-caSTAT3）を使用し、心筋細胞において caSTAT3を発現させたところ VEGF の発現が上昇していることを示し、また adeno-caSTAT3を感染させた心筋細胞の培養上清が血管新生を促進することを示している。次に、in vivo における STAT3の機能を検討するため、caSTAT3を心臓特異的に発現するトランスジェニックマウスを作製したところ、心臓における VEGF の発現上昇および血管密度の上昇を認めた。

これらの結果は、STAT3の活性化は心肥大に対する適応のメカニズムの一つとして重要であることを示している。以上より、本研究は博士（医学）の学位授与に値するものと認める。