



Title	Cigarette Smoke Extract Induces Endothelial Cell Injury via JNK Pathway
Author(s)	星野, 茂則
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45474">https://hdl.handle.net/11094/45474</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	星野茂則
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第19295号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Cigarette Smoke Extract Induces Endothelial Cell Injury via JNK Pathway (タバコ煙抽出液はJNK経路を介して血管内皮障害を誘導する)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 堀 正二 教授 下村伊一郎

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

喫煙は慢性閉塞性肺疾患(COPD)をはじめとするさまざまな疾患の原因であることは疫学的には明らかであるが、その分子生物学的メカニズムはまだ不明な点が多い。近年、肺血管内皮細胞が障害されるとラット肺に気腫性変化が誘導されるという報告がなされた。今回われわれはタバコ煙に含まれる成分が肺血管内皮を障害することで肺気腫病変が形成されるのではないかとの仮説をたて、タバコ煙抽出液(CSE)の血管内皮細胞への影響を検討した。一方 Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) は様々な刺激によって活性化され、増殖・分化・細胞死といった生命現象に深く関与することが明らかとなってきている。喫煙による血管内皮細胞障害に MAPK 経路が関与するかどうかあわせて検討した。

## 〔方法ならびに成績〕

タバコ(タール 14 mg、ニコチン 1.2 mg) 5本分の煙を Phosphate-buffered saline (PBS) 10 ml に 51/min の定常陰圧でくぐらせた抽出液を  $0.22 \mu\text{m}$  フィルターを通して滅菌、できた液体をタバコ煙抽出液(CSE)として用いた。ヒト臍静脈血管内皮細胞(HUVECs)に対して CSE の及ぼす障害、およびそのメカニズムを検討した。

まず HUVECs 培養液中に CSE を添加し、誘導される細胞障害を Lactate dehydrogenase assay (LDH assay) で評価した。CSE 添加後、時間経過とともに細胞障害は進行した。また CSE による細胞障害は、CSE 濃度依存性に増強することが観察されたが、CSE 10%以上ではおおよそ同程度の障害であった。

次に CSE が MAPK を活性化するかどうか western blotting 法を用いて評価した。Extracellular-regulated kinase (ERK), p38, c-jun N-terminal kinase (JNK) いずれの MAPK も CSE により活性化されたが、p38 が刺激後早期の一過性の活性化であるのに対し、ERK, JNK は時間経過とともに徐々に活性化が増強するというパターンを示した。CSE による血管内皮細胞障害メカニズムに MAPK 経路が関与しているかどうか検討するため、JNK, p38, ERK それぞれの阻害剤で前処置した上で CSE を培養液に加え細胞障害を評価した。JNK 阻害剤は CSE による細胞障害を著明に抑制したが、p38 や ERK の阻害剤は細胞障害に影響を与えたなかった。

タバコの有害性において一般に oxidant による酸化ストレスが重要視されているが、CSE によって誘導される細胞障害において酸化ストレスと JNK 経路との間に関連性が存在するかどうか検討した。Anti-oxidant である Superoxide dismutase (SOD) や Catalase で血管内皮細胞を前処置しておくと、CSE による JNK 活性化が抑制されるとともに、CSE による細胞障害も軽減された。以上のことから CSE は酸化ストレスを誘導することで JNK を活性化し血管内皮細胞を障害することが推測された。

#### 〔総括〕

喫煙による動脈硬化の進行などに焦点を当て、タバコの血管内皮細胞障害メカニズムが精力的に研究されている。その要因のひとつとして oxidant による酸化ストレスが考えられているが、その障害メカニズムの詳細は不明な点が多い。今回われわれは喫煙による肺血管内皮障害が気腫性変化を引き起こすのではないかという仮説をたて検討を行った。CSE は血管内皮細胞を、MAPK のひとつである JNK を介して障害することをはじめて報告した。喫煙が誘発する疾患の予防には喫煙しないことが最も大事であることに異論はないであろうが、タバコの障害メカニズムを明らかにすることで喫煙関連疾患の病態理解に近づくことができ、また疾患の進行予防や治療につながることが期待される。今後、喫煙関連疾患の研究にあたり JNK 経路がひとつのターゲットになる可能性がある。

#### 論文審査の結果の要旨

喫煙が慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の主たる原因であることは疫学的に明らかであるが、そのメカニズムは不明な点が多い。近年、肺血管内皮細胞が障害されるとラット肺に気腫性変化が誘導されるという報告がなされたことに基づき、喫煙による肺血管内皮障害が気腫性変化を引き起こすのではないかという仮説をたて検討を行った。タバコ煙抽出液 (CSE) は血管内皮細胞を Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) のひとつである c-jun N 末端キナーゼ (JNK) を介して障害することをはじめて報告した。タバコの障害メカニズムを明らかにすることで喫煙関連疾患の病態理解に近づくことができ、また疾患の進行予防や治療につながることが期待される。喫煙による動脈硬化の進行などに焦点を当て精力的に研究がなされているが、喫煙関連疾患の研究にあたり今後、JNK 経路がひとつのターゲットになる可能性がある。

以上の報告は学位に値するものと考える。