

Title	Mitogen-activated protein kinase (MAPK) and phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) pathways differently regulate retinal pigment epithelial cell-mediated collagen gel contraction.
Author(s)	坂東, 肇
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/46218
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	坂東肇
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20150 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Mitogen-activated protein kinase (MAPK) and phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) pathways differently regulate retinal pigment epithelial cell-mediated collagen gel contraction (網膜色素細胞によるゲル収縮活性における MAPK と PI3K 経路の関与)
論文審査委員	(主査) 教授 田野 保雄 (副査) 教授 不二門 尚 教授 谷口 直之

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

インテグリンは網膜色素上皮細胞 (RPE) の細胞外マトリックス (ECM) への作用を仲介しており、増殖性硝子体網膜症 (PVR) においてもコラーゲンを含む膜状組織やゲルの収縮に重要な役割を果たしているものと考えられている。PVR を促進するものとして注目されている血小板由来増殖因子 (PDGF) は一般に各種インテグリン発現を促進する。本研究では RPE のゲル収縮過程において、PDGF とインテグリンがどのように関係しているかをシグナル伝達の側面より検討することを目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

まず、培養ヒト不死化 RPE である ARPE-19 を用いた Collagen I gel contraction assay において、PDGF 刺激 (40 ng/ml) によりゲル収縮力が増加することを証明した。さらに、PDGF によって活性化される主なシグナル伝達経路の阻害剤である Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 阻害剤 (PD98059) 100 micro M、phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) 阻害剤 (wortmannin) 100 nM を添加後同様の方法で実験を試みたところ、どちらの薬剤を添加した場合にも PDGF による収縮効果が抑制されることが判った。また、この抑制反応が阻害剤の細胞毒性によるものではないことを Tripian blue, Calcein staining test にて確認した。

次に、type I collagen のリガンドとなる各サブタイプの抗インテグリン抗体を添加し、同様に Collagen I gel contraction assay を行った。結果、サブタイプのうちインテグリン $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 抗体のみが PDGF の収縮力を抑制することが判った。

さらに、PDGF 刺激と、PD98059 もしくは wortmannin 添加によるインテグリン $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ の RAN 発現変化を Real time polymerase chain reaction (Real-time PCR) を用いて検討した。Real time PCR においては、PDGF 刺激によりインテグリン $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 発現が促進を認めた。その発現促進は PD98059 添加により抑制されたが、Wortmannin 添加による反応は見られなかった。また、PDGF 刺激、PD98059 もしくは wortmannin 添加のいずれもインテグリン $\beta 1$ 発現への影響は示さなかった。また、蛋白レベルの発現測定を目的とした Flow cytometry にお

いても Real time PCR と同様の結果が得られた。

〔 総 括 〕

PDGF における RPE のゲル収縮活性は MAPK、PI3K を介していることが分かった。そのうち MAPK はインテグリン $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ の発現を介してゲル収縮調節に関与することが示唆された。しかし、PI3K に関してはその他のメカニズムが影響を与えている可能性があり、さらに詳細な検討が必要であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者らは、増殖性硝子体網膜症 (PVR) の病態解明を目的に、網膜色素上皮 (RPE) のゲル収縮過程における血小板由来増殖因子 (PDGF) とインテグリンとの関連についてシグナル伝達の側面より検討した。その結果、PDGF 刺激はゲル収縮を促進し、その反応は Mitogen-activated protein kinase (MAPK)、phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) を介していることが分かった。その中で MAPK は主に $\alpha 2$ インテグリンの発現を調節することにより収縮活性に影響を与えるが、PI3K についてはその他のメカニズムの関与が示唆された。

本論文は論文審査において学位の授与に値すると判断された。