Osaka University Knowledge Archive

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	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46218
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　坂東　肇（ばんどう　はじめ）

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ないことをTripan 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α1、α2、β1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α1、α2、β1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α1、α2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β1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α1、α2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α2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。