



Title	4-HYDROXY-2-NONENAL INDUCES ENDOTHELIAL CELL INJURY VIA PKC δ AND BIPHASIC JNK ACTIVATION
Author(s)	滝本, 宜之
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49815
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

氏名	たきもと たかゆき 滝本 宜之
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 22348 号
学位授与年月日	平成20年4月21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	4-HYDROXY-2-NONENAL INDUCES ENDOTHELIAL CELL INJURY VIA PKC δ AND BIPHASIC JNK ACTIVATION (4-Hydroxy-2-Nonenal は PKC δ と 2 相性の JNK の活性化を介して血管内皮細胞障害を誘導する)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 薬木 宏実 教授 奥村明之進

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

酸化ストレスの結果生ずる主要な産物として知られている脂質過酸化物質 4-Hydroxy-2-Nonenal (4-HNE) は慢性閉塞性肺疾患(COPD)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、動脈硬化症、脳虚血性疾患などの呼吸器、循環器系疾患において増加していることが報告されている。またこれらの疾患ではその病態形成において血管内皮細胞障害が重要であると考えられている。

4-HNE はさまざまな細胞で細胞障害を誘導することが報告されており、上記疾患における血管内皮細胞障害に積極的に関与していることが推察される。しかしながら現在までに 4-HNE による血管内皮細胞障害のメカニズムについて詳細な検討はなされていない。そこで本研究はその機序を明らかにすることを目的として解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

まず 4-HNE が血管内皮細胞に障害をきたすか否か、正常ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて検討した。生細胞数については WST-8 assay 法を用いて、死細胞数について LDH release assay 法を用いて検討した結果、4-HNE は血管内皮細胞障害を誘導することを確認した。

つぎにこの細胞障害において酸化ストレスが関与しているか否か、抗酸化物

質を用いて検討した。その結果、4-HNE による血管内皮細胞障害に対して N-acetyl-L-cystein (NAC)は細胞保護作用を有していたが、Super oxide dismutase (SOD)あるいはカタラーゼには保護作用が認められなかった。さらに、NADPH oxidase、xanthine oxidase、および mitochondrial electron transport に対する阻害薬を用いた検討より、内因性の活性酸素産生酵素阻害薬には保護作用が認められなかった。以上の結果よりこの 4-HNE による血管内皮細胞障害には内因性活性酸素は関与しないと考えられた。

ついでこの血管内皮細胞障害における Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)の関与について検討した。4-HNE は JNK(c-Jun N-terminal kinase)、p38-MAPK、ERK(extracellular signal-regulated kinase)それぞれの活性化を誘導した。しかしながら血管内皮細胞障害は JNK 阻害薬(SP600125)では抑制されたが、p38 阻害薬(SB203580)や ERK 阻害薬(PD98059)では抑制されなかった。JNK の活性化は 4-HNE 刺激 5 分後および 150 分以降にピークとなる 2 相性を示したため、いずれの時期の JNK 活性化が血管内皮細胞障害に重要かを検討した。JNK 阻害薬を 4-HNE 刺激前および後(早期の JNK 活性化後)に投与したが、いずれの投与方法でも 4-HNE による細胞障害は抑制された。以上より JNK の早期および後期活性化ともにこの細胞障害に関与していると考えられた。

さらに、4-HNE による細胞障害における Protein kinase C δ (PKC δ)の関与についても検討した。4-HNE は血管内皮細胞に対して full-length PKC δ の cleavage とともに PKC δ のリン酸化を誘導した。PKC δ リン酸化は 4-HNE 刺激 5 分後より顕著となり 30 分後以降徐々に減弱した。また 4-HNE による細胞障害は PKC δ 阻害薬(Rottlerin)により濃度依存性に抑制された。以上より PKC δ の活性化も 4-HNE による細胞障害に関与していることが考えられた。

最後に、4-HNE による細胞障害における JNK と PKC δ の相互関係について検討した。JNK 阻害薬により 4-HNE による PKC δ 活性化は抑制された。逆に PKC δ 阻害薬により後期の JNK 活性化は抑制された。これらの結果と 4-HNE により各キナーゼが活性化される時期をあわせて考えると、4-HNE による早期の JNK 活性化は PKC δ の活性化を誘導し、それに伴って後期の JNK が活性化され、その結果血管内皮細胞障害をきたすと考えられた。

〔 総 括 〕

4-HNE は PKC δ と 2 相性の JNK の活性化を介して血管内皮細胞障害を誘導した。4-HNE は呼吸器や心疾患などの病態形成に関与するため、PKC δ や JNK の活性化を抑制することが新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

酸化ストレスの結果生ずる主要な産物である、脂質過酸化物 4-Hydroxy-2-Nonenal (4-HNE) は慢性閉塞性肺疾患(COPD)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、動脈硬化症、脳虚血性疾患などの呼吸器、循環器系疾患において増加していることが報告されている。上記疾患においては血管内皮細胞障害がその病態形成において重要であると考えられている。これまでに4-HNEは細胞障害を誘導することが報告されており、これらの疾患における血管内皮細胞障害に積極的に関与していることが推察される。本研究では4-HNEによる血管内皮細胞障害がPKC δ と2相性のJNK活性化を介して誘導されることが示された。細胞内での早期JNK活性化→PKC δ 活性化→後期JNK活性化というカスケードは新知見であり、今後の細胞内シグナル伝達解析の一助となるものと思われる。さらに、PKC δ やJNKの活性化を抑制することはこれらの疾患の新たな治療戦略となることが期待される。以上より、この論文は上記疾患の病態解明や治療に寄与するものであり、学位に値するものと認める。