



Title	Angiopoietin-1 Induces Krüppel-Like Factor 2 Expression Through a Phosphoinositide 3-Kinase/AKT-dependent Activation of Myocyte Enhancer Factor 2
Author(s)	迫, 圭輔
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49985
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

【61】

氏 名	きこ 迫 圭 輔
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 7 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Angiopoietin-1 Induces Krüppel-Like Factor 2 Expression Through a Phosphoinositide 3-Kinase/AKT-dependent Activation of Myocyte Enhancer Factor 2 (Angiopoietin-1 は、Phosphoinositide 3-Kinase/AKT に よる Myocyte Enhancer Factor 2 の活性化を介して、Kruppel-Like Factor 2 の発現を誘導する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 望 月 直 樹 (副査) 教 授 岡 田 雅 人 教 授 高 倉 伸 幸

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

Angiopoietin-1 (Ang1) は血管内皮細胞に発現する受容体型チロシンキナーゼTie2を介して血管安定化と血管新生の相反する機能を調節している。申請者らは、細胞間接着を有する内皮細胞ではAng1刺激によってTie2がトランス結合を形成し血管安定化を制御するが、一方、細胞間接着を有さない内皮細胞ではAng1はTie2を細胞外マトリクスにアンカーし血管新生を亢進することを報告した。さらに、細胞間接着を有する内皮細胞においてAng1は血管安定化に関与する核転写因子Krüppel-like factor 2 (KLF2) を誘導することを見出していた。本研究ではAng1/Tie2シグナルによる血管安定化におけるKLF2の役割を明らかにするため、Ang1/Tie2シグナルがKLF2を誘導するメカニズムとAng1によるKLF2誘導の血管安定化の生理的意義について解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

内皮細胞を細胞間接着の有無でAng1刺激したところ、細胞間接着を有する内皮細胞でのみKLF2発現が誘導したことから、Ang1はTie2のトランス結合を介してKLF2を誘導することが示唆された。これまでに血液が血管を流れるときに生じる「ずり応力」がExtracellular signal-regulated kinase 5 (ERK5) による核転写因子Myocyte enhancer factor 2 (MEF2) のリン酸化を介してKLF2発現を誘導することが報告されている。はじめに、Ang1によるKLF2発現にMEF2が関与するかを知るため、KLF2プロモーター活性をレポーター遺伝子解析により測定した。その結果、Ang1はMEF2結合領域を介してKLF2プロモーターを活性化することが示された。また、siRNAによりMEF2をノックダウンした細胞では、Ang1によるKLF2発現誘導が見られなかった。次にERK5の役割を検討したところ、細胞間接着を有する内皮細胞ではAng1刺激はERK5を活性化しないこと、さらにsiRNAを用いてERK5をノックダウンしても、Ang1によるKLF2発現誘導が見られることが分かった。以上の結果から、Ang1はERK5非依存的にMEF2を活性化し、KLF2発現を誘導することが示唆された。

申請者らは以前、トランス結合したTie2がPhosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT経路を優先的に活性化することを示している。そこで、Ang1によるMEF2の活性化にPI3K/AKT経路が関与するか検討したところ、Ang1によるKLF2発現はPI3KおよびAKTの阻害剤、さらにはsiRNAによるAKTのノックダウンにより抑制されることが分かった。また、PI3KおよびAKT活性化型変異体はMEF2転写活性を亢進すると共に、MEF2依存的にKLF2プロモーターを活性化した。また、活性化型AKTを過剰発現させた内皮細胞ではKLF2の発現が亢進した。したがって、Ang1はPI3K/AKT経路を介してMEF2転写活性を亢進し、それによりKLF2発現を誘導することが示された。

次にAng1/Tie2シグナルによるKLF2発現誘導の生理的な意義について検討した。Ang1はVascular endothelial growth factor (VEGF) による炎症反応を抑制することが報告されている。そこでAng1による抗炎症作用にKLF2が関与しているか検討した。その結果、Ang1はVEGFによるVascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) の発現および単球細胞の内皮細胞への接着亢進を阻害した。Ang1の炎症抑制効果はKLF2のノックダウンにより完全に阻害された。以上の結果から、Ang1はKLF2を介してVEGFの炎症作用を抑制することが明らかになった。

〔 総 括 〕

申請者は、Ang1/Tie2シグナルによる血管安定化のメカニズムを明らかにするため、Ang1によるKLF2発現誘導機構およびその生理的意義について解析した。その結果、成熟した血管で見られる細胞間接着を有する内皮細胞では、トランス結合したTie2がPI3K-AKT-MEF2シグナル経路を介してKLF2発現を誘導することが明らかになった。また、Ang1/Tie2シグナルによるKLF2の発現がVEGFによる炎症反応を抑制したことから、血管の安定化に寄与している可能性が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Angiopoietin-1 (Ang1) は血管内皮細胞に発現する受容体型チロシンキナーゼTie2を介して血管安定化と血管新生の相反する機能を調節している。申請者らは、細胞間接着を有する内皮細胞ではAng1刺激によってTie2がトランス結合を形成し血管安定

化を制御するが、一方、細胞間接着を有さない内皮細胞ではAng1はTie2を細胞外マトリクスにアンカーし血管新生を亢進することを報告していた。本研究ではさらに解析を進め、トランス結合したTie2が血管安定化に関与する核転写因子Krüppel-like factor 2 (KLF2) をPI3K-AKT-MEF2シグナル経路で誘導することを明らかにした。また、Ang1/Tie2シグナルによるKLF2の発現がVEGFによる炎症反応を抑制したことから、血管の安定化に寄与している可能性が示された。本研究により今まで知られていなかったAng1による血管安定化の分子メカニズムが明らかとなり、これは学位の授与に値すると思われる。