



Title	Macrophage inflammatory protein-1 β induced cell adhesion with increased intracellular reactive oxygen species
Author(s)	多田羅, 雄之
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54204
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【2】

氏名	多田 義之
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 23272 号
学位授与年月日	平成21年5月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Macrophage inflammatory protein-1 β induced cell adhesion with increased intracellular reactive oxygen species (MIP-1 β は細胞内活性酸素種を上昇させ細胞接着を誘発する)
論文審査委員	(主査) 教授 桑木 宏実 (副査) 教授 祖父江憲治 教授 下村伊一郎

論文内容の要旨

〔目的〕動脈硬化は免疫や酸化ストレス・炎症性産物が広く関わり合う局所炎症であることが明らかにされつつある。炎症などにより細胞障害を受けた血管内皮に単球が遊走・接着してマクロファージに形質転換し、サイトカイン、ケモカインを分泌・制御することにより動脈硬化の進展に寄与している。このような遊走・接着には様々なインターロイキンやケモカインが報告されておりMCP-1、IL-8等のケモカインがその代表的なものである。また酸化ストレスは単球の内皮への接

着を亢進させることが報告されている。そこで我々は、このように多彩な反応を示す動脈硬化形成において活性化された単球/マクロファージ等の白血球より分泌されるケモカインの一つであるMacrophage inflammatory protein-1 β (以下MIP-1 β)に注目した。今までmonocyte chemoattractant protein-1、可溶性 intracellular cell adhesion molecule-1、可溶性vascular cell adhesion molecule-1, interleukin-8, tumor necrosis factor- α , high sensitive C-reactive protein等が心血管イベント発症の予後予測バイオマーカーとして報告されている。しかしながらこれらのマーカーは様々な細胞より分泌されることもあり予後予測因子として一定の見解は得られていない。MIP-1 β は主に活性化された白血球より分泌されCCR5に結合することにより生理学的活性を示し、遺伝学的CCR5欠損者において心筋梗塞の発症が少ないという報告がある。そこで我々は、MIP-1 β が動脈硬化促進に対して非常に重要な役割を果たすのではないかとの仮定の下に、1)培養細胞系を用いて酸化ストレスおよびインテグリンの活性化を介したMIP-1 β の内皮細胞と単球の接着促進作用、2)本態性高血圧患者において心血管イベント発症の予後予測因子になり得るかについてミニ・コホート研究、という2つの研究によりMIP-1 β の動脈硬化促進作用を明らかにした。

〔方法ならびに成績〕細胞培養実験は血管内皮細胞としてヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)、単球系細胞としてTHP-1を用いて行った。MIP-1 β はDCF(2'7'-dichlorofluorescein)で測定された酸化ストレス及び単球の内皮細胞への接着亢進を認めた。しかしインテグリン・ファミリーであるVLA-4及びLFA-1のフローサイトメトリーで測定された表面発現の増加は認めなかつた。このことよりMIP-1 β は単球のインテグリンの表面数の増加ではなく活性を亢進させることにより接着を亢進させることが示唆された。更にMIP-1 β は非特異的抗酸化剤であるN-アセチルシステイン、NADPHオキシダーゼ阻害剤であるDPI、特異的H2O2阻害剤であるカタラーゼなどによりDCFで測定された酸化ストレス及び接着の抑制を認めた。このことよりMIP-1 β はNADPHオキシダーゼを活性化することによりROS産生及び接着の亢進させることが示唆された。次にNADPHオキシダーゼの活性に重要であるPI3K-Rac1カスケードについて検討した。MIP-1 β による酸化ストレス及び接着の亢進は特異的PI3K阻害剤であるLY294002及びPI3K siRNA、Rac1 siRNAにより抑制された。このことよりMIP-1 β はPI3K-Rac1カスケードを介してROS産生及び接着を亢進することが示唆された。今までにスタチンはコレステロール低下作用に依存しない作用により酸化ストレスを抑制することが報告されている。そこで我々はフルバスタチンを用いて検討したところMIP-1 β で亢進した酸化ストレスの産生及び接着を抑制した。さらに本態性高血圧患者541人を対象としたミニ・コホート研究(平均37ヶ月フォロー)においてMIP-1 β の高値群($p=0.0473$)が年齢($p=0.0263$)および高血圧性臓器障害合併($p=0.0024$)と共に独立した予後予測因子として採択された。

〔総括〕本研究はMIP-1 β はPI3K-Rac1カスケードを介しNADPHオキシダーゼを活性化することにより酸化ストレスを亢進することを明らかにした。その結果単球でのインテグリン活性化により内皮への接着を亢進が生じるがこれらの反応は、フルバスタチンにより抑制された。またMIP-1 β は本態性高血圧患者において独立した心血管障害発症の予後予測因子であることが示唆された。以上よりMIP-1 β は動脈硬化促進作用を持つケモカインの一つであり、心血管疾患の予後予測因子としても有用である可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、単球等から分泌されるMIP-1 β における酸化ストレス(ROS)を介したMIP-1 β の内皮細胞と単球の接着促進作用と本態性高血圧患者において脳・心血管イベント発症の予測因子になりうるか検討した。MIP-1 β 刺激はインテグリンの活性を亢進させ内皮細胞への接着が亢進した。MIP-1 β により増加したROSと内皮細胞への接着は各種抗酸化剤及び

PI3k-Rac1カスケードを阻害することにより抑制された。以上よりMIP-1 β はPI3k-Rac1カスケードを介してNADPHoxidaseを活性化することで酸化ストレス産生を亢進し更にインテグリンを活性化することで内皮への接着を亢進させることが示唆された。又コホート研究よりMIP-1 β の高値群は心血管イベント発症の独立した予後予測因子であった。以上よりMIP-1 β は酸化ストレス亢進を介した動脈硬化促進作用を持つケモカインの一つであり、本態性高血圧患者において心血管イベント発症の予後予測因子としても有用である可能性が示された。本研究はMIP-1 β の細胞接着に関して酸化ストレスを介した新しい経路明らかにし、血清MIP-1 β 濃度の臨床応用への展望を示したものであり学位授与に値すると認める。