



Title	Endothelial Gab1 Deletion Accelerates Angiotensin II-Dependent Vascular Inflammation and Atherosclerosis in Apolipoprotein E Knockout Mice
Author(s)	樋口, 香織
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59731">https://hdl.handle.net/11094/59731</a>
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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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	ひ 樋 口 香 織
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 6 6 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 9 月 25 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	Endothelial Gab1 Deletion Accelerates Angiotensin II-Dependent Vascular Inflammation and Atherosclerosis in Apolipoprotein E Knockout Mice (内皮細胞特異的 Gab1 欠損は ApoE 欠損マウスでの Angiotensin II 依存性の血管炎症と動脈硬化を増強する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小室 一成 (副査) 教 授 高倉 伸幸 教 授 楽木 宏実

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔目 的〕

生活習慣病を主体とした動脈硬化は心筋梗塞、脳卒中などの原因となり、近年増加している。動脈硬化は血管内皮細胞障害を背景に発症すると考えられ、内皮機能障害の分子機構の解明は、予防や治療法の開発において重要である。

Grb2-associated binder (Gab) ドッキング蛋白質は細胞外からの外的刺激（サイトカイン、GPCRリガンドetc）依存性にチロシンリン酸化を受けて、蛋白質脱リン酸化酵素SHP2 や PI3-キナーゼp85 調節サブユニットと会合して下流のMAPキナーゼ (ERK1/2) やAKTの活性化の調節をする。我々は、その中で重要な役割を果たしているGab1に着目し、内皮細胞特異的Gab1欠損 (Gab1ECKO) マウスを作成したところ、大鼠動脈結紮による下肢虚血により、全例が下腿壊死を呈し、虚血耐性の低下を示すことより、Gab1が生後の血管新生に重要であることを見出した。さらに、Gab1ECKOマウスの内皮細胞では内皮機能維持に重要な転写因子Kruppel-like factor 2 (KLF2) の発現が低下していたが、Gab1の動脈硬化性疾患における役割はこれまで不明であった。本研究は内皮細胞のGab1が血管炎症、動脈硬化過程で担う役割を解明することを目的とする。

## 〔方法ならびに成績〕

Gab1<sup>flox</sup>マウスと Tie2-Cre トランスジェニックマウスと交配して血管内皮特異的 Gab1欠損マウス (Gab1ECKO) を作成した。Gab1ECKOマウスを apolipoprotein E 欠損 (ApoEKO) マウスと交配して Gab1ECKO/ApoEKO マウスを作成した。正常食を給餌された24週齢のオスの Gab1ECKO/ApoEKO 及び ApoEKO マウス (コントロール) に AngiotensinII (500ng/kg/min) を4週間負荷した。胸腹部大動脈を摘出したところ、Gab1ECKO/ApoEKO マウスでは全例にコントロールに比して有意に広範囲の強い動脈硬化、瘤の形成が観察された。また、動脈壁でのマクロファージの浸潤とVCAM-1発現は Gab1ECKO/ApoEKO マウスでは ApoEKO マウスに比して有意に促進されていた。

また、AngiotensinII (500ng/kg/min) 負荷7日目の大動脈での炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ )が、ApoEKOマウスに比して明らかに発現が増加していた。さらに、内皮細胞の機能維持や抗動脈硬化作用をもつKLF2、KLF4 のmRNAの発現がGab1ECKOマウスの内皮細胞で明らかに減少していることが分かった。

次にヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を用いて、KLF2のアデノウイルスでAngiotensinII刺激時のVCAM-1の発現を検討した。 $\beta$ ガラクトシターゼではAngiotensinII刺激8時間後に、VCAM-1の発現の増強を認めたが、KLF2過剰発現下では、VCAM-1の発現が抑制されていることが分かった。

よって、Gab1ECKO/ApoEKOマウスではApoEKO(コントロール群)に比べ、KLF2とKLF4の内皮細胞での発現が低下していたため、この遺伝子発現の低下がAngiotensinII依存性の血管炎症と動脈硬化の促進の一因である可能性が示唆された。

#### 〔総括〕

内皮細胞特異的Gab1欠損はApoE欠損マウスでのAngiotensin II依存性の血管炎症と動脈硬化を増強する。

#### 論文審査の結果の要旨

ドッキング蛋白質Gab1は様々な増殖因子のシグナル伝達に重要な役割を担っているが、これまで動脈硬化における役割は不明であった。本研究は、内皮細胞特異的Gab1欠損(Gab1ECKO)マウスをapolipoprotein E欠損(ApoEKO)マウスと交配してGab1ECKO/ApoEKOマウスを作成し、それがAngiotensinII依存性にApoEKOマウスと比べて、動脈硬化、動脈瘤の形成が促進される事を見出した。

その分子背景としては、Gab1ECKO/ApoEKOマウスでの動脈壁でのマクロファージの浸潤とVCAM-1の発現の促進、炎症性サイトカインの発現の増加、内皮細胞の機能維持や抗動脈硬化に重要なKLF2、KLF4のRNAの発現の低下が血管炎症と動脈硬化に寄与する可能性が示唆された。

本研究は、内皮細胞のGab1欠損が血管炎症と動脈硬化を増強することを初めて示し、学位の授与に値する研究であると考える。