

論文審査の要旨

報告番号	総研第 258 号	学位申請者	時任 紀明
審査委員	主査	西尾 善彦	学位 博士 (医学)
	副査	井本 浩	副査 谷本 昭英
	副査	宮田 篤郎	副査 橋口 照人

Cardiotrophin-1 Induces Matrix Metalloproteinase-1 in Human Aortic Endothelial Cells

(Cardiotrophin-1 はヒト大動脈内皮細胞において Matrix metalloproteinase-1 の発現を誘導する)

Cardiotrophin-1 (以下、CT-1) は、Interleukin (以下、IL)-6 ファミリーに属する炎症性サイトカインであり、心筋細胞の肥大や増殖に関わる以外にも、様々な臓器で多彩な作用を示すことが知られている。しかしながら、血管内皮細胞 (以下、血管内皮) における作用はほとんど分かっていない。一方、Matrix metalloproteinase (以下、MMP) は金属プロテアーゼの 1 群で、動脈硬化の成因・進展に深く関連していることが知られている。中でも MMP-1 は動脈硬化巣の内皮における発現増加が顕著で、その血漿濃度が急性冠症候群の患者で上昇するなど、動脈硬化性プラークの不安定化・破綻に関わっていると報告されている。そこで学位申請者らは、血管内皮における CT-1 の MMP-1 発現に及ぼす影響とそのメカニズムを検討した。実験は全て培養ヒト大動脈内皮細胞 (以下、HAEC) を用いて *in vitro* で行い、MMP-1 mRNA の発現は Ribonuclease protection assay にて、細胞内や培養液中の MMP-1 蛋白の発現は免疫染色法、Western blot 法、ELISA 法にて検討した。メカニズムの解明は、まず Western blot 法を用いて CT-1 による Janus kinase/Signal transducers and activators of transcription (以下、JAK/STAT) 系、Mitogen-activated protein kinase (以下、MAPK) 系のリン酸化を確認した上で、これらのシグナルの MMP-1 発現への関与を各々の選択的阻害剤を用いて検討した。さらに、MMP-1 の活性状態を MMP-1 activity assay にて、蛋白分解能を Zymography にて検討した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) HAEC での MMP-1 mRNA・蛋白の発現は、CT-1 の投与量・時間に依存して有意に増加した。同様に MMP-1 の分泌量も CT-1 刺激で有意に増加し、この反応は CT-1 の高熱処理や CT-1 中和抗体/抗 CT-1 受容体抗体による preincubation で抑制された。一方、抗 TLR4 抗体や抗 IL-6 抗体、抗 MCP-1 抗体では抑制されなかった。
- 2) CT-1 刺激で細胞内・培養液中に増加した MMP-1 は、主にプロテアーゼ活性を有しない不活性型であったが、活性化処理を行うと蛋白分解能を獲得し、蛋白分解活性が有意に亢進した。
- 3) CT-1 刺激により JAK/STAT 系、MAPK 系が活性化され、また各シグナルの薬理的阻害剤により CT-1 による MMP-1 mRNA・蛋白の発現が有意に抑制された。

HAEC において、CT-1 は JAK/STAT 系、MAPK 系といった細胞内シグナル伝達経路を介して MMP-1 発現を増加させた。また、この反応はエンドトキシンや IL-6、MCP-1 とは無関係であった。CT-1 は MMP-1 の活性化作用は示さなかったが、分泌された不活性型 MMP-1 が生体内や局所で活性化を受けると、有意な蛋白分解能の亢進を示しうることが Zymography にて確認され、CT-1 のプラーク不安定化・破綻への関与が示唆された。

本研究は、CT-1 が血管内皮における MMP-1 発現を促進することを *in vitro* 実験で明らかにしたもので、その結果、CT-1 が動脈硬化性プラークの脆弱化と、それに続く急性冠症候群の発症に関与している可能性が示唆されたという点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。