

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小林 幸司

血管の最内層を覆う内皮細胞は、隣接する内皮細胞と強固に接着して血管内外の物質の移動を制限している。炎症時にはこの内皮細胞の透過性が上昇するため、血漿成分や炎症細胞が血中から組織へと流入して、さらなる炎症反応が引き起こされる。血管透過性の亢進は炎症の最初期に生じ、その後の反応を引き起こすきっかけとなっているため、透過性制御因子の同定とその作用機序の解明は、炎症を理解しかつ制御する上で不可欠である。

プロスタグランジン D₂ (PGD₂) はアラキドン酸由来の脂質メディエーターの 1 つである。PGD₂ は DP 受容体と CRTH2 受容体を持ち、これらを介して睡眠や痛覚を制御し、また、喘息やアレルギー性皮膚炎を悪化させることが知られている。しかし、血管機能に対する PGD₂ の作用はほとんど検討されていなかった。

SDF-1 α は癌や虚血組織など低酸素領域で大量に産生されるケモカインの 1 種である。SDF-1 α は CXCR4 および CXCR7 という 2 つの受容体を持つ。これらの受容体は内皮細胞に発現していることが知られているものの、内皮細胞の機能に対する SDF-1 α の作用についてはほとんど明らかになっていなかった。

本研究は、PGD₂ および SDF-1 α の血管透過性に対する作用とその詳細な機序について検討した。

1) PGD₂ の血管透過性に対する作用とその機序

単離内皮細胞層の電気抵抗および蛍光標識デキストランの透過性の測定によって、PGD₂ が DP 受容体を介して内皮透過性を抑制することが示された。その下流のシグナル経路について検討を行ったところ、DP 受容体の刺激は内皮細胞の細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、その下流の protein kinase A (PKA) および Rac1 の活性化を介して内皮の透過性を抑制することが明らかになった。また、免疫染色によって、DP 受容体刺激は内皮細胞同士の接着を強固にすることも分かった。

PGD₂ の透過性抑制作用を、マウスモデルを用いて評価した。野生型マウスの耳介に croton oil を塗布すると、炎症が惹起されて血管透過性が上昇し、evans blue の血管外漏出が引き起こされたが、これは DP 受容体作動薬の処置によって解除された。DP 受容体ノックアウトマウス (DP^{-/-}マウス) に croton oil を塗布すると、野生型マウスに比べて、血管透過性がより大きく上昇した。DP^{-/-}マウスに DP 受容体作動薬を処置しても血管透過性に変化は見られなかった。

2) SDF-1 α の血管透過性に対する作用とその機序

単離内皮細胞層の電気抵抗および蛍光標識デキストランの透過性の測定によって、

SDF-1 α が CXCR4 受容体を刺激して内皮の透過性を抑制することが分かった。阻害薬を用いて下流のシグナルを検討したところ、SDF-1 α の透過性抑制作用は Gi タンパク/PI3K/Rac1 経路の活性化を介していることが示された。また、免疫染色によって SDF-1 α が内皮細胞同士の接着を強固にすることも明らかになった。

SDF-1 α の透過性抑制作用を、マウスモデルを用いて検討した。croton oil の塗布によるマウス耳介の血管透過性亢進は、SDF-1 α の皮内投与によって顕著に抑制された。

以上の成績により、1) PGD₂ の血管透過性抑制作用に、DP/cAMP/PKA/Rac1 経路の活性化と、それに続く内皮細胞同士の接着強化が関与すること、2) SDF-1 α が強力な血管透過性抑制分子であり、その作用に CXCR4/Gi/PI3K/Rac1 経路の活性化と、それに続く内皮細胞同士の接着強化が関与すること、が示された。

血管透過性の亢進は急性炎症のみならず慢性炎症の進行にも大きく関与する現象であることが近年明らかになっており、透過性制御因子は新たな治療標的として注目されている。強力な透過性抑制因子とその作用機序を明らかにした本研究は、様々な炎症性疾患の治療法の開発につながることを期待され、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位に値するものと判断した。