

# 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1125 号	氏名	郭 暁 光
論文審査担当者	主 査 沢 村 達 也 副 査 樋 口 京 一 ・ 桑 原 宏 一 郎		

## (論文審査の結果の要旨)

動脈硬化では、血管内皮細胞下に侵入したマクロファージが分泌する血小板由来増殖因子 (PDGF) が、中膜の血管平滑筋細胞を収縮型から合成型に変化させ、さらに合成型血管平滑筋細胞を中膜から内皮下に移動させる。このことが、最終的には血管内腔を閉塞して種々の心血管病を誘発する。しかし、PDGF による合成型血管平滑筋細胞の遊走の分子機序は、完全には明らかになっていない。本研究の目的は、PDGF による合成型血管平滑筋細胞の遊走の分子機序を明らかにすることである。

そこで、郭は合成型血管平滑筋細胞であるラット動脈平滑筋細胞株 A7r5 の遊走能を、この細胞の単層培養の wound healing assay で評価した。A7r5 細胞の内因性の Cav1.2L 型  $Ca^{2+}$ チャネル (Cav1.2 チャネル) や、tsA201 細胞に発現させたリコンビナント Cav1.2 チャネルのゲーティング電流やイオン電流は、パッチクランプ法のホールセルモードを用いて測定した。Proximity ligation assay (PLA) をはじめとする分子生物学的実験は、適切なキットを用いて、メーカーの指示通りに行った。

その結果、郭は以下の結果を得た。

1. PDGF 誘発の A7r5 細胞の遊走は、Cav1.2 チャネルの阻害薬ニフェジピンと、c-Src ファミリーキナーゼ (SFK) /Abl 阻害薬ボスチニブにより濃度依存性に完全に抑制され、両者の効果に相加性はなかった。
2. PDGF は A7r5 細胞で、Cav1.2 チャネルの主たるサブユニット Cav1.2 の発現量を変化させず、Cav1.2 チャネル電流を増加させ、この反応は SFK の特異的阻害分子である C-terminus c-Src kinase により抑制された。
3. 収縮型の血管平滑筋細胞内では、Cav1.2 の長い細胞内 C 末端は、翻訳後に中央付近で切断され、近位 C 末端 (PCT) と、遠位 C 末端 (PDT) に分かれる。その後、DCT は PCT に非共有的に再結合して、チャネルの活性を自己抑制する。しかし、合成型の A7r5 細胞の Cav1.2 のほとんどは、この翻訳後修飾を受けない全長型であった。
4. 異所性の発現系では、c-Src は全長型 Cav1.2 チャネルを活性化したが、DCT を切断した Cav1.2 (Cav1.2 $\Delta$ 1763) チャネルや、Cav1.2 $\Delta$ 1763 に DCT を加えた Cav1.2 チャネルを活性化しなかった。
5. c-Src は、全長型 Cav1.2 チャネルの Cav1.2 サブユニット C 末端の Tyr1709 と Tyr1758 をリン酸化して、Cav1.2 チャネルの膜電位センサーと活性化ゲートの連関効率を高めた。
6. PLA や免疫沈降の結果から、c-Src は、DCT の存否に関わらず、Cav1.2 $\Delta$ 1763 に比べて全長 Cav1.2 により効率的に結合し、リン酸化することが判明した。

これらの結果より、動脈硬化における血管平滑筋細胞の収縮型から合成型への変換は、Cav1.2 の翻訳後修飾を抑制し、PDGF による c-Src を介した遊走を促進する病態生理学的意義を持つと考えられた。

以上より、主査副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。