

学位論文抄録

マクロファージの細胞増殖及び細胞周期進行におけるAMPキナーゼの役割と
AMPキナーゼを標的とした動脈硬化症治療の検討
(AMP-activated protein kinase; its roles in proliferation and
cell cycle of macrophages, and its potential as a therapeutic target for atherosclerosis)

石井 規夫

熊本大学大学院 医学教育部博士課程 医学専攻 代謝内科学

指導教員

荒木 栄一 教授

熊本大学大学院 医学教育部博士課程 医学専攻 代謝内科学

学位論文抄録

【目的】 近年、動脈硬化病変の血管内皮下におけるマクロファージ(M ϕ)増殖が報告され、M ϕ 増殖が動脈硬化症発症、進展に重要な役割を果たす事が示されている。本研究では酸化 LDL による M ϕ 増殖に対し、AMP キナーゼ(AMPK)活性化がどのような影響を及ぼすのかを検討した。

【方法】 細胞はマウス腹腔 M ϕ を用いた。AMPK 活性化にはその活性化剤である AICAR あるいは AMPK α 1 過剰発現 M ϕ を用いた。M ϕ 増殖の解析には放射性チミン取り込み法を用いた。細胞周期解析には flow cytometry を用いた。GM-CSF の産生は ELISA 法と real-time RT-PCR 法にて検討した。AMPK、ERK1/2、p53、Rb のリン酸化及び p21^{cip}、p27^{kip} の発現は Western blot 法にて検討した。

【結果】 AICAR は M ϕ において AMPK α 1 のリン酸化を誘導し、酸化 LDL (20 μ g/ml) 及び GM-CSF (10 pM) による M ϕ 増殖を濃度依存性に抑制した。また、AMPK α 1 過剰発現 M ϕ においてもその増殖を抑制し、さらに AICAR による M ϕ 増殖抑制効果は dominant negative-AMPK α 1 (DN-AMPK α 1) 過剰発現 M ϕ にて解除された事から、AMPK 活性化が M ϕ 増殖を抑制する事が示された。AICAR は、既報の酸化 LDL 誘導性 M ϕ 増殖経路である ERK1/2 リン酸化とそれに引き続く GM-CSF の産生を完全には抑制し得なかった。そこで M ϕ の細胞周期に対する AMPK の影響を検討したところ AICAR が M ϕ の G1 期から S 期への細胞周期進行を阻止する事を見出した。GM-CSF は細胞増殖抑制因子 p53 のリン酸化及びその下流の細胞周期抑制因子 p21^{cip} の産生を抑制したが、AICAR は p53 のリン酸化及び p21^{cip} の産生抑制効果を解除し、DN-AMPK α 1 過剰発現 M ϕ では、この AICAR による p53 のリン酸化及び p21^{cip} の産生抑制解除効果が消失した。また、AICAR は別の細胞周期抑制因子 p27^{kip} の産生を誘導し、DN-AMPK α 1 過剰発現 M ϕ では、この AICAR による p27^{kip} 産生誘導効果が消失した。さらに、GM-CSF は、細胞周期を G1 期から S 期へと進行する際に重要な細胞周期関連因子である Rb のリン酸化を誘導し、AICAR は GM-CSF による Rb のリン酸化を抑制した。また、DN-AMPK α 1 過剰発現 M ϕ では、AICAR による Rb のリン酸化抑制効果が解除された。一方、p53 過剰発現 M ϕ 及び p27^{kip} 過剰発現 M ϕ においても GM-CSF による M ϕ 増殖が抑制された。さらに、siRNA により p21^{cip} 及び p27^{kip} 発現を抑制した M ϕ では、AICAR による M ϕ 増殖抑制効果が減弱した。

【考察】 AMPK 活性化は酸化 LDL による M ϕ 増殖を抑制した。その機序として、p53 を介した p21^{cip} 産生誘導効果及び p53 とは独立した p27^{kip} 産生誘導効果の 2 つの機序による細胞周期進行阻止作用が関与する可能性が考えられた。

【結論】 AMPK 活性化による M ϕ 増殖抑制効果は、動脈硬化症の新たな治療標的となる可能性が示された。