

氏名	小池 抄代
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第481号
学位授与年月日	平成29年9月27日
審査委員	主査 教授 竹谷 健
	副査 教授 丸山理留敬
	副査 教授 木下 芳一

論文審査の結果の要旨

糖尿病患者の予後の中心的役割を果たしている心血管合併症において、タンパク質の糖化反応によって生成される終末糖化産物 (AGE) が関与している可能性が示唆されている。また、血管の石灰化、特に中膜の石灰化が、糖尿病や慢性腎臓病患者において心血管死と関連することが近年報告された。申請者らは、これまでAGEが酸化ストレスを介して血管平滑筋細胞を骨芽細胞様細胞に形質転換させ、カルシウム (Ca) 沈着を来すことで血管の石灰化に寄与していることを明らかにした。このAGEはアポトーシスも誘導するため、今回、AGEが血管平滑筋細胞のアポトーシスをもたらし、中膜の石灰化に関与するかどうかを検討した。ラットの大動脈平滑筋細胞 (A7r5) とグリコールアルデヒドから作成したAGE3を用いて検討した結果、AGE3はA7r5細胞のCa沈着を有意に促進したが、caspase 阻害薬 (Z-VAD-FMK) の添加により抑制されたことから、AGE3誘導性のCa沈着はアポトーシスを介していることが示唆された。また、DNA断片化を検出するELISA法によりアポトーシスを定量的に調べた結果、AGE3は100 µg/mLからアポトーシスを誘導し、TUNEL法でもAGE3によりアポトーシスの促進を認めた。ここで、AGEが酸化ストレスに関与することから活性酸素を産生するNAD(P)H oxidaseの阻害薬 (GKT 137831, VAS 2870) を用いたところ、AGE3によるアポトーシスが抑制されたことからAGE誘導性のアポトーシスにはNAD(P)H oxidaseの活性化が関与していることが明らかになった。さらに、NAD(P)H oxidase の構成分子であるNox4とp22^{phox}の発現がmRNAとタンパクの両方においてAGE3により上昇しており、Reactive oxygen speciesレベルの増加もみられた。そこでsiRNAを用いてNox4とp22^{phox}をそれぞれ単独、もしくは同時にノックダウンしたところ、AGE3誘導性のアポトーシスは有意に、且ついずれも同程度に抑制された。以上の結果より、AGE3は酸化ストレスを介して血管平滑筋細胞のアポトーシスを誘導し、Ca沈着を促進することが示されたため、AGEシグナルやNAD(P)H oxidaseは、血管石灰化・動脈硬化の治療標的となる可能性がある。