

論文の内容の要旨

氏名：中 川 優

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：単球系細胞における生体異物 benzo[a]pyrene および活性型ビタミン D₃による plasminogen activator inhibitor-1 の発現誘導

Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は線溶系を阻害することで血液を凝固に傾けることが知られているが、動脈硬化やがんにも関与していることが報告されている。タバコ中の有害物質のひとつである benzo[a]pyrene (BaP) は、ダイオキシン受容体 (aryl hydrocarbon receptor; AhR) の活性化を介して異物代謝に関わる遺伝子を誘導し、無毒化される。しかし、その過程で生じる中間代謝産物には有害作用があり、動脈硬化などの病態に関与する（代謝活性化という）。活性型ビタミン D である 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) による vitamin D receptor (VDR) の活性化は、カルシウム代謝の主要な調節機構だが、細胞の増殖・分化、炎症・免疫、そして生体異物代謝を調節する作用もあり、動脈硬化性疾患などの発症を抑制する。これまでの研究より、単球系血液細胞株における BaP と 1,25(OH)₂D₃ の併用は、BaP 代謝活性化を亢進し、また 1,25(OH)₂D₃ の不活性化を促進することが示され、AhR シグナル系と VDR シグナル系のクロストークが動脈硬化などの病態に関与することが明らかになりつつある。

本研究では AhR と VDR のクロストーク解析の一環として、BaP と 1,25(OH)₂D₃ を併用した時の動脈硬化関連因子 PAI-1 の誘導への影響を明らかにすることを目的とした。

単球系血液細胞株である THP-1 細胞と U937 細胞を BaP または 1,25(OH)₂D₃ 存在下で培養し、経時的に PAI-1 mRNA を測定するとともに、細胞数、細胞形態、バイアビリティ、LDH 活性、アポトーシスなどとの関連性を解析した。

THP-1 細胞及び U937 細胞いずれにおいても BaP 単剤では PAI-1 mRNA 発現は誘導されなかったが、1,25(OH)₂D₃ を併用することで PAI-1 mRNA 発現が効果的に誘導された。また THP-1 細胞及び U937 細胞における BaP と 1,25(OH)₂D₃ の併用は、酸化ストレス及びアポトーシスを亢進した。酸化ストレス抑制剤の投与は、アポトーシスを抑制するにもかかわらず、PAI-1 mRNA の発現を低下させなかった。BaP と 1,25(OH)₂D₃ による PAI-1 の発現誘導は、酸化ストレスを介さないメカニズムであると考えられる。

本研究では VDR と AhR からのシグナルのクロストークによる PAI-1 誘導の新たなメカニズムの存在を示している。しかし、そのメカニズムの解明には至らなかったため、今後の研究で解明していく予定である。本研究の結果から、AhR に VDR からのシグナルも入ることで、生理的な PAI-1 機能を増強する可能性は否定できないものの、動脈硬化などの BaP 関連疾患の病態が悪化する可能性を示している。本研究は細胞株のみで解析した結果であり、正常細胞や *in vivo* の系でも同じ結果となるか検証が必要である。

論文審査の結果の要旨

氏名：中 川 優

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：単球系細胞における生体異物 benzo[a]pyrene および活性型ビタミン D₃による plasminogen activator inhibitor-1 の発現誘導

審査委員：（主査） 教授 橋 本 修

（副査） 教授 石 原 寿 光 教授 高 橋 昌 里

教授 杉 谷 雅 彦

benzo[a]pyrene (BaP) のダイオキシン受容体 (aryl hydrocarbon receptor; AhR) への結合は、細胞内に活性酸素種産生に伴う酸化ストレス増加などによる細胞傷害、発癌や動脈硬化と関係する。一方、ビタミン D のビタミン D 受容体 (vitamin D receptor ; VDR) への結合は細胞増殖・分化や炎症・免疫の調節作用を示し、また、動脈硬化性疾患の発生を抑制する。しかし、BaP/AhR 系と VD/VDR 系のクロストークについては十分に明らかにされていない。本研究は、BaP/AhR 系と VD/VDR 系のクロストークを明らかにするために、BaP 効果に対する活性型ビタミン D である 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) の影響について、ヒト単球系細胞株である U937 と THP-1 を用いて、線溶系を阻害することで血液を凝固に傾け、動脈硬化の発生に関与することが知られている plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 発現を中心に検討した。その結果、BaP 単独では PAI-1 mRNA 発現は誘導されなかったが 1,25(OH)₂D₃ の併用で効果的に誘導された。また、両者の併用は U937、THP-1 の分化誘導を促進し、酸化ストレス増強によるアポトーシスが誘導された。抗酸化剤は BaP と 1,25(OH)₂D₃ の併用による PAI-1 mRNA 発現に影響を与えなかった。このように本研究は、BaP と AhR 結合によるシグナル経路と 1,25(OH)₂D₃ の VDR 結合によるシグナル経路のクロストークが PAI-1 mRNA に影響を与えることを明らかにした。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成 年 月 日