



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Adenosine monophosphate-activated protein kinase regulates platelet-derived growth factor-BB-induced vascular smooth muscle cell migration

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2016-06-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 飯田, 美紀 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/47870">http://hdl.handle.net/20.500.12099/47870</a>

学位論文要約  
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

乙第 1473 号

氏 名: 飯 田 美 紀  
Full Name Miki Iida

学位論文題目: AMP 活性化プロテインキナーゼによる血小板由来成長因子に起因する血管平滑筋細胞遊走の制御

Thesis Title Adenosine monophosphate-activated protein kinase regulates platelet -derived growth factor-BB-induced vascular smooth muscle cell migration

学位論文要約:  
Summary of Thesis

血管平滑筋細胞 (VSMC) の遊走は、血管損傷の修復、動脈硬化性病変の進展や血管形成後の再狭窄において重要な役割を果たしている。Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB は、強力な VSMC 遊走因子として知られている。PDGF-BB による VSMC の遊走には、p44/p42 mitogen-activated protein kinase (MAPK) や phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) が関与すると報告されているが、その正確な作用機序は解明されていない。また、エネルギー調節に重要な役割を担っている Adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) も VSMC の遊走にも関与していることが報告されているが、その詳細は明らかではない。そこで本研究では、PDGF-BB による VSMC (A10 細胞) の遊走における AMPK の役割およびその作用機序を検討した。

【対象と方法】

胎児ラットの大動脈平滑筋細胞株、A10 細胞を用いた。遊走能の評価には、Boyden chamber 法を用いた。各種タンパク質のリン酸化の解析には、ウェスタンブロット法を用いた。AMPK の down regulation には、small interfering RNA (siRNA) を用いた。

【結果】

- 1) PDGF-BB は AMPK- $\alpha$  の Thr172 残基を時間依存性にリン酸化した。
- 2) AMPK の阻害薬である compound C は PDGF-BB による A10 細胞の遊走を濃度依存性に抑制した。
- 3) PDGF-BB は AMPK の下流の基質である acetyl CoA carboxylase のリン酸化を時間依存性に促進し、そのリン酸化は compound C により抑制された。
- 4) AMPK- $\alpha$  の down regulation により、PDGF-BB による A10 細胞の遊走は抑制された。
- 5) c-Raf, MEK 1/2, p44/p42 MAPK は PDGF-BB によりリン酸化されそのリン酸化は compound C で抑制された。PI3K, Akt は PDGF-BB によりリン酸化されそのリン酸化は compound C で抑制された。
- 6) AMPK の活性化物質である AICAR は、A10 細胞の遊走を促進した。AICAR により Akt の Ser473 残基はリン酸化されたが、Thr308 残基および p44/p42 MAPK はリン酸化されなかった。
- 7) MEK 1/2 の阻害薬である PD98059 は PDGF-BB による p44/p42 MAPK のリン酸化を抑制したが、Akt のリン酸化には影響しなかった。PI3K の阻害薬である LY294002 は PDGF-BB による Akt のリン酸化を抑制したが、p44/p42 MAPK のリン酸化に影響しなかった。

【考察】

A10 細胞において、PDGF-BB は AMPK- $\alpha$  および acetyl CoA carboxylase をリン酸化し、AMPK 阻害薬である compound C は、PDGF-BB による acetyl CoA carboxylase のリン酸化を抑制した。これにより、A10 細胞において PDGF-BB が AMPK を活性化することが示された。PDGF-BB による A10 細胞の遊走は、compound C と AMPK- $\alpha$  の down regulation によって、それぞれ抑制された。このことから、PDGF-BB は AMPK の活性化を介して VSMC

の遊走を促進することが示唆される。Compound C により PDGF-BB による c-Raf, MEK 1/2, p44/p42 MAPK, PI3K, Akt のリン酸化が抑制された。よって, AMPK がこれらの経路の活性化を制御していると考えられる。しかし, 1  $\mu$ M の compound C によって, PDGF-BB による c-Raf, MEK 1/2, PI3K の活性化は完全に抑制されたが, Akt の抑制は部分的であり, p44/p42 MAPK は影響されなかったことと, 1  $\mu$ M の compound C が A10 細胞の遊走を完全に抑制したことを合わせて考えると, p44/p42 MAPK と Akt は, AMPK 以外の経路によっても制御されている可能性がある。AMPK がリン酸化される時間が, c-Raf, MEK 1/2, p44/p42 MAPK, PI3K, Akt のリン酸化よりも早いことから, AMPK の作用部位は c-Raf や PI3K よりも上流であると考えられる。AMPK の活性化物質である AICAR が A10 細胞の遊走を促進し Akt のリン酸化を促進したことから, AMPK の活性化は A10 細胞の遊走に促進的に働くと考えられる。一方, PD98059 は PDGF-BB による Akt のリン酸化に, LY294002 は PDGF-BB による p44/p42 MAPK のリン酸化にそれぞれ影響を与えなかった。よって, p44/p42 MAPK 経路と PI3K/Akt 経路は, それぞれ独立して遊走を制御していると考えられる。

PDGF-BB は, 血管損傷後にさまざまな細胞から放出される成長因子で, VSMC の遊走を惹起する。PDGF-BB による VSMC の遊走は, 組織の損傷に伴う血管損傷の修復に重要な役割を果たしているが, 過剰に反応すると, 動脈硬化の進行や血管形成やステント留置, バイパス術の後の再狭窄を引き起こす可能性がある。AMPK はエネルギーの恒常性を制御する主要な因子であるが, 本研究では PDGF-BB による VSMC の遊走に促進的に作用することが判明した。したがって, 動脈硬化や外科的あるいはカテーテルによる血管治療後の患者にとっては, AMPK が再狭窄予防のための標的となる可能性がある。

#### 【結論】

VSMC において PDGF-BB は AMPK を活性化する。p44/p42 MAPK 経路と PI3K/Akt 経路は AMPK を介して活性化され, それぞれ独立して, VSMC の遊走を制御している。AMPK は, 動脈硬化性病変を有する患者や血管狭窄の治療後の患者にとっては, 治療の標的となりうる可能性がある。

Archives of Biochemistry and Biophysics 530, 83-92 (2013).