

Calcium release from endoplasmic reticulum  
involves calmodulin-mediated NADPH  
oxidase-derived reactive oxygen species  
production in endothelial cells

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2020-04-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 櫻田, 隆悟 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/00003708">http://hdl.handle.net/10271/00003708</a>

## 論文審査の結果の要旨

血管内皮細胞における活性酸素種 (ROS) の生成に関わる NADPH オキシダーゼ (NOX) の活性化には、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  とカルモジュリン (CaM) が関わりとされるがその機構の詳細は明らかではない。申請者は初代培養ブタ下行大動脈血管内皮細胞を用い、ブラジキニン (BK: 1  $\mu\text{M}$ ) 刺激による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  動態と ROS 産生の関連について検討し以下の結果を得た。(1) 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 1 mM の条件下で BK は Fura-2 で測定した細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を持続性に増加させたが、細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 0 mM の条件下では一過性の小さな上昇を認めるのみで、この上昇は  $\text{Ca}^{2+}$  キレート剤 BAPTA/AM (100  $\mu\text{M}$ ) の前投与により消失した。(2) BK は ROS 産生を増強したが、その産生は細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 0 mM (EGTA: 1 mM) あるいは 1 mM の条件下で同等であり、NOX 阻害薬である VAS2870 (50  $\mu\text{M}$ ) の前投与により抑制された。細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 0 mM の条件下において、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  を BAPTA/AM (100  $\mu\text{M}$ ) でキレートしたり、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase inhibitor である Thapsigargin (1  $\mu\text{M}$ ) を用いて小胞体カルシウム含有量を減少させると ROS 産生は減弱した。(3) BK による ROS 産生は、CaM 阻害薬である W-7 (100  $\mu\text{M}$ ) の前投与によって抑制されたが、CaM 依存性プロテインキナーゼ II 阻害薬である KN-93 の前投与では抑制されなかった。また NOX2、NOX4、NOX5 いずれのリン酸化も認めなかった。以上の結果より、BK 投与による ROS 生成には、ストア調節性  $\text{Ca}^{2+}$  流入ではなく小胞体から放出された  $\text{Ca}^{2+}$  によって活性化される  $\text{Ca}^{2+}$ /CaM が、リン酸化過程を介さず直接 NOX を活性化する機構が関与するとした。

審査委員会では、生理機能が注目されている ROS の血管内皮における産生機構を、BK 刺激を例にとり初めて詳細に明らかにした点を高く評価した。

以上により、本論文は博士 (医学) の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 浦野 哲盟

副査 前川 裕一郎 副査 岩城 孝行