九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

チロシンキナーゼ型受容体Tie-1の可溶型変換機構の意義に関する分子細胞学的研究

上里，梓

https://hdl.handle.net/2324/1654791

出版情報：Kyushu University, 2015, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏　　名 ： 上 里 梓

論 文 名 ： チロシンキナーゼ型受容体 Tie-1 の可溶型変換機構の意義に関する分子細胞学的研究

区　　分 ：甲

論 文 内 容 の 要 旨

チロシンキナーゼ型受容体である Tie-1 (Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains-1) は、血管内皮細胞に特異的に発現し、血管新生制御に深く関わる因子として知られる。Tie-1 のリガンドは未だ同定されていないものの、Tie ファミリーである Tie-2 と細胞内・外ドメインを介し複合体を形成すること、活性化 Tie-2 依存性にトランス活性化されること、可溶型に変換されることなどの報告があり、Angiopoietin (Ang)/Tie 連関制御系としての重要な役割が示唆されているが、Tie-1 可溶型変換の意義はいまだ不明である。

本研究では、Tie-1 可溶型変換機構の病態生理学的意義を明らかにするため、種々の条件で刺激を加えたヒト血管内皮細胞の細胞溶解液や培養上清を試料とし、ウエスタンブロット法、免疫沈降法、ELISA を用いて Tie-1 可溶型変換に伴う Ang/Tie 連関への影響を検討した。

ヒト血管内皮細胞溶解液を試料として、ヒト Tie-1 に対する抗体でウエスタンブロット法を行ったところ、糖鎖修飾の違いにより 2 つの分子量 {全長約 145 kDa の HM (high molecular weight)-f (full-length) Tie-1、および約 135 kDa の LM (low molecular weight)-f (full-length) Tie-1} が確認され、Protein Kinase C (PKC) 活性依存性に HM-fTie-1 バンドシグナルの即時消失と、培養上清中の可溶型 Tie-1 濃度上昇を認めた。また、Ang-1 刺激による Tie-1 リン酸化 (Ang-1/Tie-2 連関依存性 Tie-1 トランス活性化) の誘導レベルは、可溶型に変換し難い LM-fTie-1 で相対的に高いことが明らかとなり、LM-fTie-1 は受容体本来の機能である「transducer」としての役割を担う部分が大きいことが示唆された。一方、免疫沈降法により、Tie-2 と細胞外ドメインを介して複合体を形成する fTie-1 は HM-fTie-1 のみであることが明らかになった。さらに、Ang-1 による Tie-2 活性化誘導は、PKC 活性状態に影響されない一方で、Ang-1 による LM-fTie-1 トランス活性化誘導は、PKC 活性亢進により抑制され、その機序として PKC 活性依存性 HM-fTie-1 可溶型変換の関与が示唆された。

以上より、糖鎖修飾の異なる 2 種類の Tie-1 は、それぞれ固有の生化学的特性を持って Ang/Tie 連関のシグナル制御分子としての役割を担い、中でも Tie-1 可溶型変換機構は Tie-1、Tie-2 活性バランス (active Tie-2 > active Tie-1) を環境依存性に変化させ、血管新生過程において重要な制御システムとして機能している可能性が示唆された。