

# Pivotal Role of Rho-Associated Kinase 2 in Generating the Intrinsic Circadian Rhythm of Vascular Contractility

齊藤, 寿郎

<https://hdl.handle.net/2324/1398323>

---

出版情報：九州大学, 2013, 博士（医学）, 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（4）

氏名・(本籍・国籍)	さいとうとしろう 齊藤 寿郎 (福岡県)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博甲第2635号
学位授与の日付	平成25年7月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系学府 臓器機能医学専攻
学位論文題目	Pivotal Role of Rho-Associated Kinase 2 in Generating the Intrinsic Circadian Rhythm of Vascular Contractility (血管収縮性の内在性概日リズム形成に、Rho-Associated Kinase 2 は重要な役割を果たす)
論文調査委員	(主査) 教授 笹栗 俊之 (副査) 教授 北園 孝成      教授 富永 隆治

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 背景

心血管疾患の発症には日内変動が存在する。血管収縮性の概日リズムはその要因となることが示唆される。中枢と末梢の生物時計が相互作用して血管の収縮性を日内変動させると考えられる。しかし、血管に内在する生物時計と血管の収縮性の関係は、分子レベルで明らかにされていない。

## 方法・結果

デキサメサゾン処理により培養血管平滑筋細胞の概日リズムを同調させ、その後の時間経過でアゴニスト刺激によるミオシン軽鎖のリン酸化を観察したところ、周期長 25.4 時間を持つ明らかな概日リズムが認められた。Rho-associated kinase 2 (ROCK2) の薬理的阻害および発現抑制により、この概日リズムは消去した。ROCK2 の発現および活性は、ミオシン軽鎖リン酸化と同位相の概日リズムを示した。時計遺伝子 ROR $\alpha$  は ROCK2 遺伝子のプロモーター活性を上昇させ、一方で ROR $\alpha$  の発現抑制により ROCK2 の発現リズムは消去した。野生型マウスの大動脈において、ROCK2 の発現は概日リズムを示し、Zeitgeber time (ZT) 0/24 で最大値に、ZT 12 に最低値に達した。GTP $\gamma$ S 刺激およびトロンボキサン A<sub>2</sub> 類似体 U46619 刺激が引き起こす筋フィラメントのカルシウム感受性亢進作用は、ZT 0/24 において ZT 12 の場合と比べて増大していた。機能的 ROR $\alpha$  を欠損する staggerer 変異マウスにおいて、ROCK2 の発現および筋フィラメントのカルシウム感受性の日内変動が消失していた。

## 結論

ROR $\alpha$  からシグナルを受け、ROCK2 は血管収縮性に内在性の概日リズムをもたらす。ROCK2 による血管収縮性の概日リズムは心血管病発症の日内変動の基盤となる可能性がある。

## 論文審査の結果の要旨

心血管疾患の発症には日内変動が存在する。血管収縮性の概日リズムはその要因であることが示唆され、中枢と末梢の生物時計が相互作用して血管の収縮性を変動させると考えられている。しかし、血管に内在する生物時計と血管の収縮性との関係は分子レベルでは明らかにされていないため、申請者らは本研究を行った。

デキサメサゾン処理により培養血管平滑筋細胞の概日リズムを同調させ、その後の時間経過でアゴニスト刺激によるミオシン軽鎖のリン酸化を観察したところ、周期長 25.4 時間を持つ明らかな概日リズムが認められた。Rho-associated kinase 2 (ROCK2) の薬理的阻害および発現抑制により、この概日リズムは消失した。ROCK2 の発現および活性は、ミオシン軽鎖リン酸化と同位相の概日リズムを示した。時計遺伝子 ROR $\alpha$  は ROCK2 遺伝子のプロモーター活性を上昇させ、一方で ROR $\alpha$  の発現抑制により ROCK2 の発現リズムは消失した。野生型マウスの大動脈において、ROCK2 の発現は概日リズムを示し、Zeitgeber time (ZT) 0/24 で最大値に、ZT 12 に最低値に達した。GTP $\gamma$ S 刺激およびトロンボキサン A<sub>2</sub> 類似体 U46619 刺激が引き起こす筋フィラメントのカルシウム感受性亢進作用は、ZT 0/24 において ZT 12 の場合と比べて増大していた。機能的 ROR $\alpha$  を欠損する staggerer 変異マウスにおいて、ROCK2 の発現および筋フィラメントのカルシウム感受性の日内変動が消失していた。

以上の結果から、ROR $\alpha$  からシグナルを受け、ROCK2 は血管収縮性に内在性の概日リズムをもたらすことが明らかとなり、ROCK2 による血管収縮性の概日リズムが心血管病発症の基盤となる可能性が示唆された。

以上の成績は、この方面の研究に知見を加えた意義のあるものと考えられた。本論文についての試験では、まず研究目的、方法、実験結果などについて説明を求め、次いで各調査委員より専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々質問を行ったところ、おおむね満足すべき回答を得た。

よって調査委員合議の上、試験は合格と決定した。