

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 深井邦剛

主論文 1編

Pyk2 aggravates hypoxia-induced pulmonary hypertension by activating HIF-1 $\alpha$ .  
American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology 2015;308:951-9

## 審査結果の要旨

肺動脈性肺高血圧症は原因不明の予後不良な疾患として知られているが、血管拡張薬の導入によりその予後は大きく改善した。しかしながら最近の米国レジストリー(Reveal study)では5年で30%弱の症例が死亡しているという現状があり、肺高血圧診療はさらに改善させる必要がある。以前は肺高血圧症の病態に肺細動脈収縮や血栓形成が重要であるとされてきたが、現在、肺細動脈内膜層、中膜層の増殖や分化誘導、炎症、細胞動員などが新たな治療ターゲットとして注目されている。すでに新たな薬剤としてチロシンキナーゼ阻害薬や免疫抑制剤が臨床応用されているが、肺高血圧症に対する治療効果や安全性に対しては未だ不透明な点が多いのが現状である。

以前より申請者の研究グループは心血管ストレスにより非受容体型チロシンキナーゼ Pyk2 が活性化され、血管リモデリングを亢進させることを報告してきた(Circulation 2007)。また肺組織には Pyk2 蛋白が多く存在し血管内皮や血管平滑筋全般に分布していることから、申請者は Pyk2 分子が肺高血圧血管リモデリングに関連しているという仮説をたて、これを検証するために以下の実験・解析を行った。

肺高血圧症の実験には、低酸素負荷誘発性肺高血圧症モデルマウスが用いられた。まず肺組織において低酸素刺激により Pyk2 が活性化されていることが確認された。低酸素負荷前後での右室収縮期圧を測定したところ野生型(WT)マウスでは26.8mmHgから51.3mmHgへ上昇したが、Pyk2 knock out(KO)マウスでは25.4mmHgから38.4mmHgへと右室圧の上昇が有意に抑制されていた。また組織評価においても Pyk2 KO マウスで肺動脈中膜層の肥厚が抑制され増殖細胞も有意に減少し、右室心筋肥大も軽減していた。低酸素応答を引き起こす蛋白質である HIF-1 $\alpha$  は低酸素刺激でその分解が抑制され、核内移行することが知られている。肺組織における低酸素刺激前後での HIF-1 $\alpha$  の核内移行を評価したところ、Pyk2 KO マウスで HIF-1 $\alpha$  の核内移行が有意に抑制され、また HIF-1 $\alpha$  の下流分子である GLUT-1 や VEGF の mRNA の上昇が抑えられた。

さらに分子メカニズムの解明のため、ヒト肺動脈平滑筋細胞(HPASMC)を用いた実験を行った。small interfering RNA で Pyk2 を knock down した HPASMC を作成し正常酸素、低酸素(1% O<sub>2</sub>)で評価したところ、増殖、遊走、HIF-1 $\alpha$  蛋白の上昇のいずれも Pyk2 knock down HPASMC で抑制されていた。HIF-1 $\alpha$  が上昇する前の時相で変化している蛋白を検索したところ、カルボニル化蛋白の増加が Pyk2 knock down HPASMC で抑制されていた。これは Pyk2 knock down していない HPASMC に比べて Pyk2 knock down している HPASMC では酸化ストレスが少ないことを示唆する。また活性酸素抑制薬の N-アセチルシステインを使用し低酸素負荷したところ、Pyk2 を抑制した実験系とほぼ同様の結果が得られた。このことから申請者は、Pyk2 は ROS を介し HIF-1 $\alpha$  の調整に関わっていてそれが肺血管リモデリングに影響を与えたと考察している。

以上が本論文の要旨であるが、肺高血圧症の肺血管リモデリングにチロシンキナーゼ Pyk2 が関与し、ROS や HIF1 $\alpha$  の調整によって肺高血圧症を制御し得ることを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

平成28年2月18日

審査委員 教授 田中秀央 ㊦

審査委員 教授 佐和貞治 ㊦

審査委員 教授 濱岡建城 ㊦