

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名	細田千裕
題 名 MEK inhibitor PD0325901 upregulates CD34 expression in endothelial cells via inhibition of ERK phosphorylation （ 和 訳 ） MEK 阻害剤 PD0325901 は ERK リン酸化阻害を介して 内皮細胞における CD34 発現を上昇させる <背景> CD34 陽性血管内皮前駆細胞（endothelial progenitor cells; EPCs）は血管新生を促進することが知られている。近年、CD34 陽性細胞を用いた虚血性疾患への自家移植治療法の安全性と有効性が報告されており、再生医療分野での期待が高まっている。しかし、EPCs の数や質は、喫煙や加齢、糖尿病などにより低下することが報告されており、効率的かつ安定的な移植細胞の確保が課題である。近年、機能的な細胞を産生する手法として、化合物や遺伝子操作により細胞運命を操作するリプログラミングの手法が報告されている。そこで我々は、リプログラミングによる血管内皮細胞からの CD34 陽性細胞作製を試みることにした。 <方法> リプログラミングに関する過去の報告を基に、7 つの化合物に着目した。血管内皮細胞として、ヒト臍帯静脈内皮細胞（human umbilical vein endothelial cells; HUVECs）を使用した。化合物を HUVECs に作用させた後、定量的 PCR、フローサイトメトリー、免疫細胞染色により CD34 の発現を評価した。 <結果・考察> 7 つの化合物により処理された HUVECs では CD34 の発現が上昇した。そこで次に、7 つの化合物から 1 つずつ化合物を取り除いて培養したところ、PD0325901 を取り除いた群でのみ CD34 の発現は検出限界以下となった。この結果から、MEK 阻害剤 PD0325901 が CD34 発現上昇に大きく寄与していることが示唆された。PD0325901 のみで 7 日間 HUVECs を処理し、フローサイトメトリーで解析したところ、約 98% が CD34 陽性となり、タンパク質レベルでも CD34 の発現が著明に上昇することを確認した。さらに、PD0325901 作用細胞では ERK のリン酸化が抑制されることをウエスタンブロットにより確認した。その一方で、線維芽細胞を用いた検討では、PD0325901 処理による CD34 の発現上昇は観察されなかった。これらの結果から、PD0325901 は内皮細胞において ERK のリン酸化を阻害することで CD34 発現上昇に寄与していることが示唆された。 <結語> In vitro では、MEK 阻害剤 PD0325901 により内皮細胞の CD34 発現が強力に誘導された。我々の研究成果が、虚血性疾患に対する CD34 陽性 EPC 移植治療に貢献することを期待する。	