

琉球大学学術リポジトリ

培養肺胞上皮細胞におけるブラキジキニン B2
受容体刺激による上皮成長因子受容体の1047番目の
セリン残基のリン参加反応

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学 公開日: 2018-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 和泉, 俊輔, イズミ, シュンスケ, Izumi, Shunsuke メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/37849

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Phosphorylation of epidermal growth factor receptor at serine 1047 in cultured lung alveolar epithelial cells by bradykinin B2 receptor stimulation

(培養肺胞上皮細胞におけるブラジキニン B2 受容体刺激による上皮成長因子受容体の 1047 番目のセリン残基のリン酸化反応)

氏 名 和泉俊輔 (和泉)

【 背 景 ・ 目 的 】
<p> ブ ラ ジ キ ニ ン (bradykinin: BK) 受 容 体 は 、 G タ ン </p>
<p> パ ク 質 共 役 型 受 容 体 (G-protein-coupled receptor: GPCR) の </p>
<p> 1 つ であり、肺で発現が多いことが報告され </p>
<p> ている。Angiotensin-converting enzyme (ACE) はキニナ </p>
<p> ーゼ II と 同 一 であり、ACE 阻 害 薬 は 肺 での BK </p>
<p> の 作 用 を 増 強 さ せ る 可 能 性 が あ る 。 し か し 肺 </p>
<p> に お け る BK の 作 用 は 明 ら か に さ れ て は い な い 。 </p>
<p> 一 方 、 我 々 の 研 究 室 で は 、 こ れ ま で に 培 養 肺 </p>
<p> 胞 上 皮 細 胞 である A549 細 胞 を 用 い て 、 Toll-like </p>
<p> receptor5 (TLR5) の 刺 激 や 過 酸 化 水 素 処 理 に よ </p>
<p> り 、 mitogen-activated protein kinase (MAP キ ナ ー ゼ) が 活 </p>
<p> 性 化 さ れ 、 epidermal growth factor (EGF) 受 容 体 の </p>
<p> 1047 番 目 の セ リ ン 残 基 (Ser1047) が リ ン 酸 化 さ </p>
<p> れ る こ と を 明 ら か に し た 。 さ ら に 、 TLR5 刺 激 </p>
<p> では Ser1047 の リ ン 酸 化 に よ り EGF 受 容 体 の エ ン </p>
<p> ド サ イ ト ー シ ス が 起 こ る こ と を 報 告 し た 。 し </p>
<p> か し 、 GPCR 刺 激 に よ る Ser1047 の リ ン 酸 化 反 応 に </p>
<p> つ い て は 報 告 が な い 。 我 々 は 、 以 前 に 、 DNA </p>
<p> マ イ ク ロ ア レ イ に よ り 、 A549 細 胞 に は 、 BK 受 </p>

容体が存在することを見いだした。今回、

A549 細胞での BK 受容体刺激による MAP キナーゼの活性化と EGF 受容体のリン酸化反応について検討した。

【方法】

MAP キナーゼの活性化と EGF 受容体のリン酸化反応は、免疫ブロット法により検討した。

MAP キナーゼの活性化は、ルシフェラーゼアッセイ法でも検討した。BK 処理後の mRNA の発現変化を DNA マイクロアレイで検討した。さらに、dual specific MAP kinase phosphatase (DUSP) 5 の遺伝子発現変化を RT-PCR 及びリアルタイム定量 PCR により検討した。

【結果・まとめ】

BK 処理により、MAP キナーゼの中の extracellular signal-regulated kinase (ERK) と p38MAP キナーゼが活性化された。ルシフェラーゼアッセイ法からは ERK がより強く活性化されることが示唆された。BK 処理により、Ser1047 のリン酸化が 3 分で認められた。このリン酸化は、ERK の阻害薬

により、強く抑制された。BKのB1およびB2受容体の作用薬と拮抗薬を用いた実験により、B2受容体刺激がSer1047のリン酸化に関与することが明らかになった。一方、過酸化水素処理とは異なりTyr1173はリン酸化されず、BK処理では、EGF受容体は活性化されないことが示唆された。DNAマイクロアレイでは、検討した41,628遺伝子中の1,152遺伝子の発現がBK処理により変化した。今回、変化した遺伝子の中のDUSP5についてさらに検討し、mRNAがBK処理により4倍以上増加することが確認された。したがって、ERKの負のフィードバック機構が存在することが示唆された。

これらの結果は、肺胞上皮細胞において、BKがERKの活性化を介してEGF受容体の機能を調節していることを示唆している。