Phosphatidylinositol 3-kinase class II α isoform (PI3K-C2α) maintains vascular integrity

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-12-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/46120

【要約】

修士課程優秀論文

クラスII型PI3-キナーゼαアイソフォーム (PI3K-C2α) は血管の健全性を維持する

Phosphatidylinositol 3-kinase class II α isoform (PI3K-C2α) maintains vascular integrity

金沢大学医薬保健学総合研究科 血管分子生理学
（第一生理学）
小泉早織，吉岡和晃，安藝　翔，多久和　陽

血管内皮のPI3K-C2αは発生期および生後の血管新生に必須である

ホスファチジルイノシトール (PI) 3－キナーゼ (PI3K) は，イノシトール環3位の水酸基をリン酸化する脂質リン酸化酵素である．PI3Kは哺乳類において3つのクラス (I, II, III) および8つのアイソフォームが存在する (図1)．クラスI型PI3Kはその酵素活性産物である$PI(3,4,5)P_3$の産生を介してAktを活性化させ，細胞の増殖・分化・遊走を調節することが知られている．クラスIII型PI3KはPI(3)Pを産生し，オートファジーに関与する[1]．一方，クラスII型PI3Kに関する生理機能はほとんど不明であったため，我々は，クラスII型のうちクラスIIα型PI3K (PI3K-C2α) の全身型ホモ欠損マウスを作製した．その結果，胎生期において血管形成 (血管新生) の異常が見られ，胎生致死となった．さらに組織特異的PI3K-C2αKOマウスを作製して解析したところ，平滑筋細胞あるいは心筋細胞特異的PI3K-C2αKOマウスは正常に発育し，メンデルの法則に従い出生したのに対し，血管内皮特異的KOマウスは血管新生不全を呈し胎生致死であった[2]．PI3K-C2αの生後における生理機能を明らかにするため，タモキシフェン誘導型血管内皮特異的PI3K-C2αコンディショナルノックアウトマウス (PI3K-C2α i-eCKOマウス) を作製した．生後3日目のマウスにタモキシフェンを投与し，生後6日目のマウス網膜における血管新生を観察したところ，PI3KC2α i-eCKOマウスにおいてコントロールマウスと比較して血管新生の著しい低下がみられた．これらの結果より，PI3K-C2αは胎生期および生後の血管新生に必須であることが明らかとなった[2]．

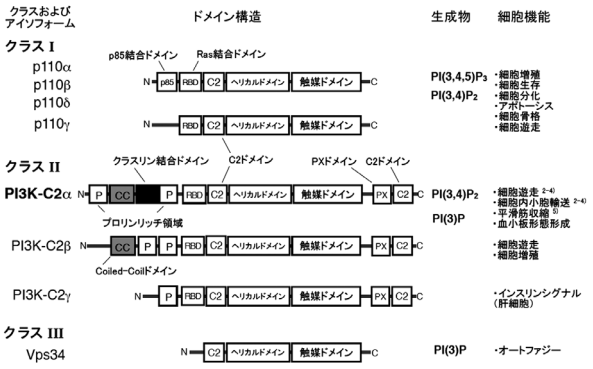


図1．PI3Kファミリーの分類，ドメイン構造，生成物および細胞機能

血管内皮のPI3K-C2αは血管の障壁機能を維持する

PI3K-C2a発現をノックダウンしたHUVEC単層培養における透過性をFITCデキストラン法により評価したところ，コントロール細胞と比べ無刺激時及び血管内皮増殖因子 (VEGF) -A刺激時共に有意に透過性が亢進していた．そこで，全身型ホモKOマウスは胎生致死であるため，生存可能なPI3K-C2α遺伝子ヘテロ欠損マウス (ヘテロKO) を用いて生後の生理機能を解析した．まず，エバンスブルー色素法により血管透過性を評価したところ，ヘテロKO マウスではVEGF-Aの皮内投与による色素血管外漏出は，野生型マウスと比較して有意に亢進していた．また，アナフィラキシー誘発物質である血小板活性化因子 (PAF) を静脈内投与すると，ヘテロKOマウスにおいて血漿の著しい血管外漏出が生じ，ショック状態となりPAF投与後40分以内に全例が死亡した．一方，野生型マウスは全例が生存した．これらの結果から，PI3K-C2αは血管内皮のバリア機能維持に必須であることが示唆された[2]．

血管内皮のPI3K-C2αはアンジオテンシンIIによる血管壁脆弱化を防止する

アンジオテンシンII (Ang-II) を2週間慢性投与したヘテロKOマウスでは，解離性大動脈瘤が高頻度に観察された．一方，野生型マウスでは解離性大動脈瘤は見られなかった．KOマウスでは，解離性大動脈瘤が破裂して出血し，投与後2週間後に約50％のKOマウスが死亡した．エバンスブルー色素法により血管透過性を評価したところ，KOマウスでは大動脈および冠動脈において血管透過性が有意に亢進していた．抗VE-カドヘリン抗体を用い*en face*ホールマウント免疫染色を行ったところ，大動脈内皮の細胞間接着がヘテロKOマウスにおいて障

害されていた．さらに興味深いことに，PI3K-C2αヘテロi-eCKOマウスでもAng-II慢性投与による解離性大動脈瘤の発症が見られたことから，内皮におけるPI3K-C2a欠損が血管壁脆弱化の原因と考えられた[2]．

血管内皮においてPI3K-C2αは受容体エンドサイトーシスと細胞内小胞上でのシグナリングに必要である

以上の検討から内皮細胞に高発現するクラスII型PI3K-C2αは発生期の血管新生のみならず，生後の血管健常性維持に欠かすことのできない役割を持つことが明らかとなった．内皮細胞においてPI3K-C2αは，PI(3)PやPI(3,4)P_2の産生を介して，エンドサイトーシス，膜タンパク質の配送，リサイクリング，エンドソーム上でのシグナル産生に関与すると考えられる (図2)[2,3]．主要な血管新生因子であるVEGFやトランスフォーミング成長因子β1 (TGFβ1) が内皮細胞に作用すると，細胞表面の特異的受容体のエンドサイトーシスが誘発され，受容体は早期エンドソームに移行する．これら受容体のシグナル伝達の内，VEGFによる低分子Gタンパク質Rhoの活性化やTGFβ1による転写調節因子Smad2及びSmad3のリン酸化は早期エンドソームで起こった．PI3K-C2αをノックダウンした内皮細胞では，受容体のエンドサイトーシスとRhoの活性化およびSmad2，Smad3のリン酸化がともに抑制された．従って，PI3K-C2αは受容体エンドサイトーシスに関与することにより，細胞内小胞上でのシグナル伝達に必要であると結論された．興味深いことに，PI3K-C2αノックダウン細胞において，TGFβ1-Smad2/3系を介したVEGF-A産生が有意に減少しており，これによりTGFβ1刺激により誘導される細胞遊走及び管腔形成能が著しく障害されていた．さらに，マトリゲルプラグ・*in vivo*血管新生アッセイにおいて，野生型及び平滑筋特異的PI3K-C2α KOマウスでは，TGFβ1はマトリゲル内の微小血管数を著しく増加させたのに対し，内皮特異的PI3K-C2α KOマウスにおいてマトリゲル内の微小血管数の増加は見られなかった[4]．

以上述べてきたように，内皮細胞においてPI3K-C2α機能は血管新生及びバリア機能維持に必要であることが明らかとなった．クラスI型PI3Kも血管新生に必要であるが，PI3K-C2αとクラスI型PI3Kは，全く異なる細胞内機序により内皮の血管新生機能を調節している．PI3K-C2αは血管健全性を維持する作用を有すので，他の治療と組み合わせることにより，さまざまな血管障害に対する新しい治療標的となることが期待される．

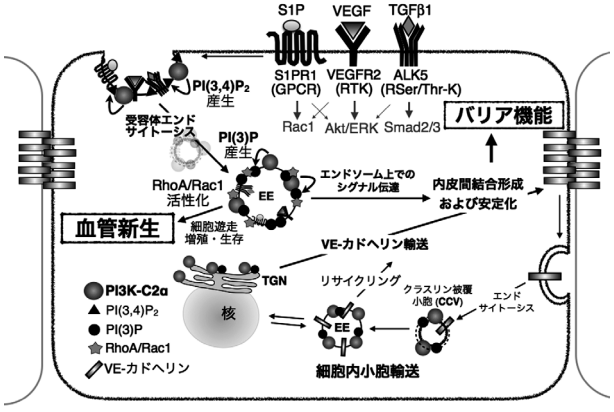


図2．血管内皮細胞内におけるPI3K-C2αによる細胞内小胞輸送の制御を介した血管新生および血管バリア機能の制御
(EE：初期エンドソーム，TGN：トランスゴルジネットワーク)

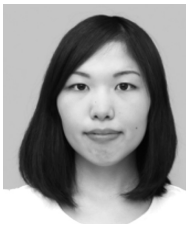
参 考 文 献

1) Vanhaesebroeck B. *et al.* (2010) The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signaling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 11, 329-341.

2) Yoshioka K, Yoshida K, Cui H, et al. (2012) Endothelial PI3K-C2a, a class II PI3K, has an essential role in angiogenesis and vascular barrier function. *Nat Med.* 10, 1560-1569.

3) Biswas K, Yoshioka K, Asanuma K, et al. (2013) Essential role of class II PI3K-C2a in sphingosine-1-phosphate receptor-1 mediated signaling and migration in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 288(4) 2325-2339.

4) Aki S, Yoshioka K, Okamoto Y., et al. (2015) Phosphatidylinositol 3-kinase class II a-isoform PI3K-C2a is required for transforming growth factor β-induced Smad signaling in endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 290(10) 6086-6105.



Profile

2014年3月　金沢大学理工学域自然システム学類　卒業

2016年3月　金沢大学大学院医薬保健学総合研究科　修士課程修了