

# G12/13 and Gq mediate S1P2-induced inhibition of Rac and migration in vascular smooth muscle in a manner dependent on Rho but not Rho kinase

|       |                                                                                             |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者:<br>公開日: 2017-10-04<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者:<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/2297/19114">http://hdl.handle.net/2297/19114</a>             |

【総説】

第六回 高安賞優秀賞受賞論文

論文 「G<sub>12/13</sub> and G<sub>q</sub> mediate S1P<sub>2</sub>-induced inhibition of Rac and migration in vascular smooth muscle in a manner dependent on Rho but not Rho kinase」

Cardiovascular Research

Vol.79, Page 689-697

2008年9月掲載

血管平滑筋細胞においてS1P<sub>2</sub>受容体は三量体G蛋白質G<sub>12/13</sub>およびG<sub>q</sub>への共役を介してRho依存性的、しかしRhoキナーゼ非依存的な機構によりRac活性および細胞遊走を抑制する

高島伸一郎 (たかしま しんいちろう)

研究の背景

血管中膜平滑筋細胞の内膜への遊走は、動脈硬化病変の形成において重要なステップである。<sup>1)</sup>したがって血管平滑筋細胞の遊走能を制御することは血管内膜増殖性病変の有用な治療手段となり得る。リン脂質メディエータースフィンゴシン1リン酸(S1P)は、さまざまな細胞においてS1P特異的G蛋白結合型受容体(GPCR)ファミリー(S1P<sub>1</sub>, S1P<sub>2</sub>, S1P<sub>3</sub>(図1))を介して多様な生理作用を引き起こす。<sup>2)</sup>血管増殖性病変との関連で特に興味深いのは、S1Pが血管平滑筋細胞においてS1P受容体に結合し血小板由来増殖因子(PDGF)によるRacの活性化と細胞遊走

走を抑制することである。<sup>3)</sup>今回、S1PによるRacと細胞遊走の抑制の細胞内シグナル伝達メカニズムを明らかにした。

方 法

8週齢Wisterラット大動脈由来培養平滑筋細胞を用い、PDGF、S1P、Angiotensin IIなどの刺激による細胞遊走促進あるいは抑制効果をバイデンチェンバー法にて評価した。細胞内Rho、Rac活性はpull down法を用いて測定した。G蛋白質αサブユニットのC末端ペプチド(G<sub>α</sub>-CT)をアデノウイルスを用いて発現させ、おのおののG蛋白質と受容体(GPCR)との共役を特異的に抑制する手法を用いてシグナル伝達機能を評価した。

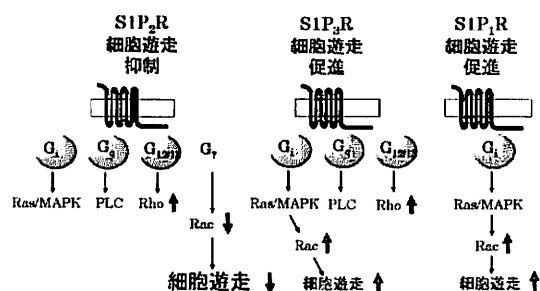


図1. S1P受容体

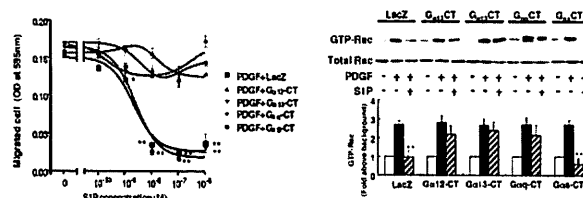


図3. アデノウイルスを用いたG12-CT, G13-CT, Gq-CTの発現はPDGFによって惹起される細胞遊走とRacの活性化のS1Pによる抑制を解除する。

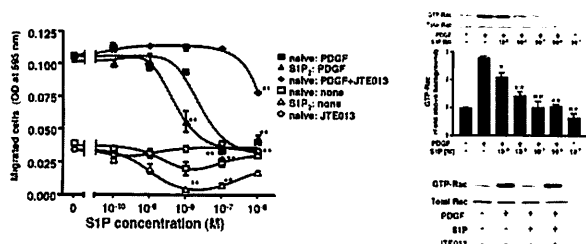


図2. S1PはPDGFによって誘導された細胞遊走およびRacの活性化を抑制した。それらの作用は選択的S1P2受容体阻害剤JTE013によって解除される。

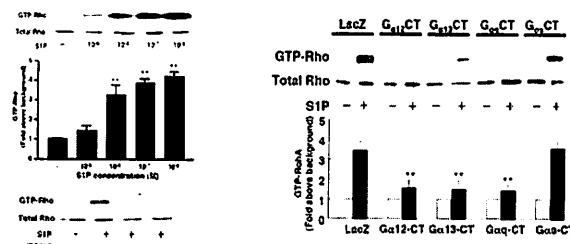


図4. S1PはRhoを活性化した。アデノウイルスを用いたG12-CT, G13-CT, Gq-CTの発現はS1PによるRhoの活性化を抑制する。

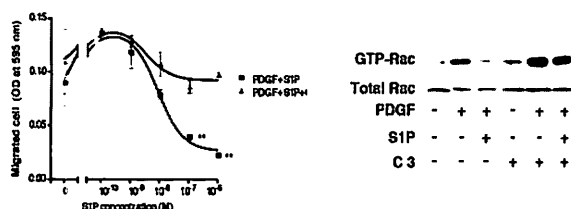


図5. ボツリヌスC3毒素はPDGFによって誘導されたRacの活性化および細胞遊走のS1P抑制を解除する。



図6. PDGFによって惹起された細胞遊走やRac活性化のS1P抑制はRhoキナーゼ阻害剤によって影響を受けない。

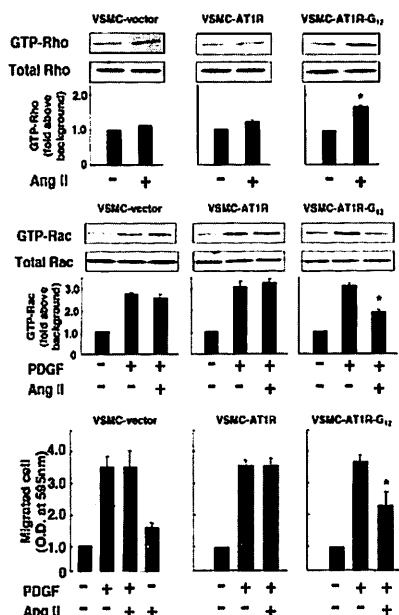


図7. AT1受容体はRhoの活性化やPDGFによって惹起された細胞遊走やRac活性化を起こさないが、G12を連結したAT1受容体 (AT1-G<sub>12</sub>) を発現させるとRhoの活性化を認め、さらにPDGFによって誘導された細胞遊走やRac活性化の抑制を認める。

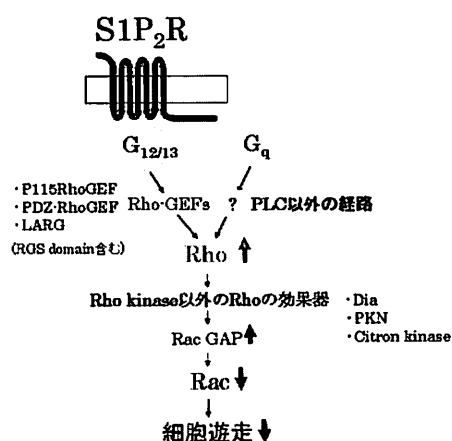


図8. S1Pによる細胞運動抑制の細胞内メカニズム

## 結 果

血管平滑筋細胞においてPDGFによって惹起される細胞遊走とRac活性化のS1Pによる抑制はS1P2受容体選択的阻害剤によって解除された。(図2) アデノウイルスを用いてG<sub>12</sub>-CT, G<sub>13</sub>-CT, G<sub>q</sub>-CTを発現させるとPDGFによって惹起される細胞遊走とRacの活性化のS1Pによる抑制は解除されたが、G<sub>12</sub>-CTの発現や百日咳毒素の前処理では解除されなかった。(図3) すなわち、このS1P作用にはG<sub>12/13</sub>およびG<sub>q</sub>がともに不可欠であることが示された。G<sub>12</sub>-CT, G<sub>13</sub>-CTおよびG<sub>q</sub>-CTの発現はS1PによるRhoの活性化も抑制した。(図4) ボツリヌスC3毒素はPDGFによって惹起されるRacの活性化および細胞遊走のS1P抑制を解除したが(図5)、Rhoキナーゼ阻害剤やRhoキナーゼの優性抑制性変異体の発現は影響を与えなかった。(図6) アンジオテンシンII受容体AT1はG<sub>q</sub>と結合するが、Rhoの活性化や、PDGFによって惹起されるRacの活性化および細胞遊走の抑制は引き起こさなかった。すなわちG<sub>q</sub>単独の活性化はRhoの活性化や結果として生じるRacの抑制には不十分であった。ところが、G<sub>12</sub>をAT1受容体の細胞内C末端部に連結したAT1-G<sub>12</sub>受容体を発現させるとアンジオテンシンII刺激によりRhoの活性化を認め、さらにPDGFによって惹起されたRac活性化および細胞遊走の抑制が認められた。(図7) ホスホリパーゼC (PLC) 阻害薬はS1PによるRhoの活性化に影響を与えず、またホルボールエステルによるCキナーゼ(PKC)活性化は、S1Pとは異なりRhoを活性化しなかった。すなわちS1Pの細胞遊走やRacの抑制効果はPLC系経路を介さないことが明らかとなった。

## ま と め

以上の結果を総合し、血管平滑筋細胞においてS1P<sub>2</sub>受容体はG<sub>12/13</sub>およびG<sub>q</sub>の両者を介して協調的にRhoを活性化し、Rhoキナーゼ非依存的にRacおよび細胞遊走を抑制することが明らかとなった。(図8)

## 文 献

- 1) Schwartz SM. Smooth muscle migration in atherosclerosis and restenosis. *J Clin Invest* 1997; 99: 2814-2816
- 2) Takuwa Y, Okamoto Y, Yoshioka K, Takuwa N. Sphingosine-1-phosphate signaling and biological activities in the cardiovascular system. *Biochim. Biophys. Acta* 2008; 1781: 483-488
- 3) Ryu Y et al. Sphingosine-1-phosphate, a platelet-derived lysophospholipid mediator, negatively regulates cellular Rac activity and cell migration in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2002; 90: 325-332



## Profile

所属：金沢大学恒常性制御学 (IⅢ第一内科) 循環器グループ

2000年3月 金沢大学医学部医学科卒業  
2000年4月 金沢大学旧第一内科入局  
2002年4月 金沢大学医学部血管分子生理学 (多久和研究室)  
2008年9月 金沢大学大学院医学系研究科卒業

専門分野：循環器内科学  
現在は循環系を中心とした生体恒常性制御に関する臨床研究に携わっている。