

AngiotensinII 刺激による NFAT 活性化における  $G\alpha_{12/13}$  と活性酸素の関与

○西田 基宏<sup>1</sup>, 藤井 智美<sup>1</sup>, 小野原 直哉<sup>1</sup>, 福富 匡<sup>1</sup>, 永松 裕一<sup>1</sup>, 小林 弘幸<sup>1</sup>, 井上 隆司<sup>2</sup>, 柴崎 太<sup>3</sup>, 長尾 拓<sup>4</sup>, 黒瀬 等<sup>1</sup>(<sup>1</sup>九大院薬, <sup>2</sup>九大院医, <sup>3</sup>東京臨床研, <sup>4</sup>国立衛生研)

アンジオテンシン II (AngII) は、様々なシグナル伝達経路を介して心肥大を引き起こす生理活性物質である。今回我々は、三量体  $G_{12}$  タンパク質 ( $G_{12/13}$ ) および活性酸素種 (ROS) が AngII 受容体刺激による nuclear factor of activated T cells (NFAT) の活性化に関与するかラット新生仔心筋の線維芽細胞を用いて検討した。心筋線維芽細胞は、ラット新生仔 (1~2 日齢) より単離した。 $G\alpha_{12/13}$  の機能阻害は、p115RhoEGF の  $G\alpha_{12/13}$  特異的 regulator of G protein signaling (RGS) ドメイン (p115-RGS) をアデノウイルス法により発現させることで行った。NFAT の活性は、reporter gene assay (Luciferase) または GFP 融合 NFAT4 タンパク (GFP-NFAT4) の局在を調べることで評価した。細胞内 ROS 産生は、DCF 蛍光法を用いて測定した。AngII 刺激による NFAT 活性化は、NADPH oxidase 阻害剤 diphenyleneiodonium (DPI)、ドミナントネガティブ (DN) 型 p47<sup>phox</sup>、DN-Rac1、または p115-RGS の発現によって有意に抑制された。AngII 刺激による ROS 産生が p115-RGS により抑制されたことから、AngII 受容体と共役する  $G\alpha_{12/13}$  が NADPH oxidase 活性化による ROS 産生を介して NFAT を活性化することが示された。非刺激時において細胞質に局在していた GFP-NFAT4 は、AngII 刺激により核に移行した。AngII による GFP-NFAT4 の核移行が DPI では抑制されず、BAPTA 処置により抑制された。NFAT の核移行は  $Ca^{2+}$  依存的であり、ROS は  $Ca^{2+}$  とは独立した経路で NFAT を活性化する可能性が示された。以上の結果から、我々は AngII 受容体刺激が  $G\alpha_{12/13}$ 、Rac1 を介して ROS を産生し、NFAT 転写活性の増大を引き起こすことを明らかにした。