

Title	1, 25- (OH) 2D3の血管平滑筋細胞受容体ならびに増殖に与える影響に関する研究
Author(s)	高, 榮男
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36073">https://hdl.handle.net/11094/36073</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	こう 高	えい 榮	お 男
学位の種類	医	学	博士
学位記番号	第	8608	号
学位授与の日付	平成元年3月24日		
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	1, 25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> の血管平滑筋細胞受容体ならびに増殖に与える影響に関する研究		
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男	(副査) 教授 宮井 潔	教授 園田 孝夫

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

動脈硬化の発症には、血管内膜での平滑筋細胞の増殖が重要であるとされている。Vitamin D中毒時には血管平滑筋細胞(VSMC)の増殖および石灰化を特徴とする動脈硬化の発症が知られている。また動脈硬化発症モデルとして動物にVitamin Dを多量に摂取させる方法が広く用いられているが、その発症機序は明確でない。最近、活性型Vitamin Dである1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>はCa代謝に関与するのみでなく、種々の細胞にその受容体が発見されるとともに、その増殖、分化に影響を与える生物活性修飾因子である事が報告されている。しかし、1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>のVSMCに与える影響についての報告はない。今回、VSMCが1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の新しい標的細胞であることを明らかにした。

### 〔方法〕

VSMCは、Wistar ratの胸部大動脈中膜より explant 法にて調整し、10% FCS 添加 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)にて培養し、継代数4~10を用いた。細胞質中の受容体の検討として、1, 25-(OH)<sub>2</sub> [<sup>3</sup>H] D<sub>3</sub>を用いて、Equilibrium binding study, 蔗糖密度勾配法, DNA celluloseへの親和性, 各種Vitamin D代謝物の親和性を検討した。次にVSMCを35 mm dishに培養し、1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>を添加し、Coulter counterにて細胞数を計測した。

### 〔結果〕

#### 1) 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の受容体の検討

VSMC細胞質内に1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>に特異的な受容体の存在が証明された。

Kdは $5.0 \times 10^{-11}$ M, Fmaxは22.9 fmol/mg protein, 蔗糖密度勾配法の沈降係数は3.5Sで, DNA

celluloseに親和性を持ち、高K溶液にて溶出された。Vitamin D<sub>3</sub>代謝物の受容体への親和性は1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>>>25-OHD<sub>3</sub>>24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>>>D<sub>3</sub>の順であった。

## 2) 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の増殖に与える影響

1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>は10<sup>-10</sup>M以上で有意にかつ容量依存性にVSMCの増殖を促進した。第7日では、10<sup>-7</sup>M 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>添加にて細胞数は対照の170%となった。10<sup>-8</sup>M以上にて、細胞の形態が不鮮明な輪郭を持つ多角形な細胞から鮮明な輪郭を持つ紡錘形の細胞に変化した。25-OHD<sub>3</sub>、24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、D<sub>3</sub>も同様にVSMCの増殖を亢進させ形態に変化を与えたが、その効果は弱く、受容体へのそれぞれの親和性の順序と同じであった。他のCa代謝ホルモンである副甲状腺ホルモン、カルシトニン、或は培養液中のCa濃度の増加はVSMCの増殖には影響しなかった。一方ステロイドホルモンであるDexamethasoneは既に知られているごとく、10<sup>-8</sup>M以上にて容量依存性にVSMCの増殖を抑制した。

### 〔総括〕

本研究によりVSMCは活性型Vitamin Dの新しい標的細胞であることを明らかにした。すなわちVSMC細胞質内には1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>に対する特異的受容体が存在し、その性状は、他の細胞の受容体の報告と一致した。1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>をはじめVitamin D<sub>3</sub>代謝物はその受容体への親和性に相関して、VSMCの増殖を促進した。1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>は恐らくその特異的受容体を介してVSMCの増殖を促進すると考えられる。in vivoにおいても1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>を初めとするVitamin D代謝物がVSMC増殖促進作用を介して動脈硬化の発症に関与する可能性がある。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、活性型Vitamin Dである1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の血管系に及ぼす作用について、ラット大動脈由来の培養血管平滑筋細胞(VSMC)を用いて検討したものである。Vitamin D中毒時にはVSMCの増殖および石灰化を特徴とする動脈硬化の発症が知られている。本研究においては、Equilibrium binding study, 蔗糖密度勾配法, DNA celluloseへの親和性, 各種Vitamin D代謝物への親和性を検討し、VSMC細胞質内には1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>に対する特異的受容体が存在することを明らかにした。また、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>をはじめ各種Vitamin D代謝物はその受容体への親和性に相関して、VSMCの増殖を促進させ、形態に変化を与えることを見出し、VSMCが1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の新しい標的細胞であることを明らかにした。動脈硬化の発症にはVSMCの増殖が重要であると言われている。本研究で明らかにされた1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>をはじめとするVitamin D誘導体の血管系に及ぼす作用は、動脈硬化の発症機序解明に新しい展望を開くものと考えられ、学位を授与するに値すると認められる。