The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Cloning of a Membrane-Spanning Protein with Epidermal Growth Factor-Like Repeat Motifs from Adrenal Glomerulosa Cells
Author(s)	Halder, Sunil Krishna
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41676
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 1 】

氏　　名	Halder Sunil Krishna（ハルダー スニル キリシナ）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　14043　号
学位授与年月日	平成10年5月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科　生理系専攻
学 位 論 文 名	Cloning of a Membrane-Spanning Protein with Epidermal Growth Factor-Like Repeat Motifs from Adrenal Glomerulosa Cells (副腎球状層における上皮成長因子様反復配列を持つ膜結合蛋白のクローニング)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡本 光弘 (副査) 教 授 谷口 直之　教 授 竹田 潤二

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]　副腎皮質は細胞構築及び分泌するステロイドの違いにより，3つの層に区別される。最外層の球状層はアルドステロンを，その内側の束状層，網状層はそれぞれグルココルチコイド，アンドロゲンを合成，分泌している。これら3層を構成する細胞は胎児期に1種類の幹細胞がそれぞれ異なった分化を遂げ，同心円状に層を構築するものと考えられるが，その詳細は明らかでない。最近，球状層内の束状層と接する細胞層部分にアルドステロンもグルココルチコイドも産生しない新たな層が免疫組織化学的に同定され，この層が副腎3層の未分化細胞を含む層である可能性が示唆された。本研究においては球状層特異的に発現する遺伝子を単離することにより層形成及びそれぞれの細胞の分化様式の解明を試みた。

[方法ならびに成績]　ラットの球状層細胞とそれより内側の細胞を分離し，それぞれからcDNAを調製し，PCRを利用したサブトラクション法により球状層特異的な3種のcDNA断片を得た。そのうち最も発現が顕著なものについて全長cDNAを単離・構造決定した結果，このcDNAがコードする蛋白は脂肪前駆細胞から脂肪組織への分化誘導を阻害する因子pref-1のアイソフォームであり異なったスプライシングによる産物であることが示唆された。この蛋白はショウジョウバエの発生，分化に重要な膜タンパク質のNotch/Deltaファミリー蛋白に特有の上皮成長因子様反復配列と高い相同性を有する6回の反復配列を持つ。成獣ラット副腎を抗pref-1抗体，抗P450 (aldo/11B1) 抗体との2重染色で検討した結果，pref-1は髄質と球状層のほぼ全域で発現しておりP450 (aldo) を発現していると考えられる細胞は被膜直下に存在するpref-1ポジティブ細胞の一部であることが明らかとなった。一方，P450 (11B1) を発現する束状層細胞ではpref-1を発現していなかった。球状層と束状層との間に存在するステロイド合成を行っていない機能未分化細胞層はさらに2層に分類され，外側がpref-1のみを発現する細胞層，束状層と接する層がpref-1もP450 (aldo/11B1) も発現していないネガティブ層であった。胎児副腎を検討した結果，後者のネガティブ層は存在しないことから，副腎皮質の未分化細胞はpref-1発現細胞である可能性が示唆され，成獣副腎で観察された束状層との境界に位置するネガティブ細胞層はpref-1発現機能未知細胞が束状層細胞に分化しつつある層であることが示唆された。また，球状層細胞から副腎皮質再生を行わせノーザン法および組織染色で束状層へ分化する時のpref-1の発現

変動の検討を行った結果，再生初期（再生後3日）に細胞当たりのpref-1の発現量もpref-1発現細胞の総数も減少していた。このことから副腎皮質の各層の分化時には脂肪前駆細胞から脂肪組織への分化と同様にpref-1の発現抑制が伴うことが示唆された。

［総括］ ラット副腎皮質球状層に特異的に発現する遺伝子（pref-1）の単離に成功した。球状層と束状層の境界に位置するステロイド合成を行っていない機能的に未分化な細胞で構成されている層はpref-1の発現の有無によりさらに2種類の層に分類できた。一方，胎児期の機能未分化層は全てpref-1を発現していた。また，副腎再生時に束状層への分化に伴ったpref-1の発現の減少が観察されたことより，pref-1発現細胞が副腎皮質の未分化細胞であり，束状層への分化に伴ってpref-1の発現が抑制される可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究の最も評価すべき点は副腎皮質球状層に特異的に発現する遺伝子pref-1の発現細胞の分布を詳細に解析したことである。その結果これまでアルドステロン産生細胞層と非産生細胞層との2種類に分けられていた球状層内に束状層へ分化途中の新たな層を発見することができた。さらに，胎児期および副腎再生時におけるpref-1の発現動態を検討し，pref-1発現細胞が副腎皮質3層の起源であり，pref-1の発現抑制が層分化に相関することをつきとめた。その結果，今後の副腎皮質の層分化に関する研究に大きな突破口を開いたという点で本論文が学位に値するものと考える。