The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Phenotype-dependent expression of cadherin 6B in vascular and visceral smooth muscle cells
Author(s)	千森, 義浩
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41752
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

【17】

氏　　名	千森義浩（ちもりよしひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　15222　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学位論文名	Phenotype-dependent expression of cadherin 6 B in vascular and visceral smooth muscle cells （血管および内臓平滑筋細胞におけるカドヘリン6Bの形質依存性発現制御）
論文審査委員	（主査） 教　授　祖父江憲治 （副査） 教　授　津本　忠治　　教　授　松澤　佑次

論文内容の要旨

【目的】

分化型平滑筋細胞から脱分化型平滑筋細胞への形質変換は、動脈硬化、高血圧などの主因の一つと考えられる。分化型平滑筋細胞は紡錘型を示し、発達したdense membrane, dense body、筋原線維を形成し、収縮能を示す。これに対し、脱分化型平滑筋細胞は線維芽細胞様の形態を示し、dense membrane, dense bodyは消失し、筋原線維の発達も弱い。収縮能は消失し、逆に細胞増殖能と遊走能を獲得する。さらに、平滑筋細胞形質転換に伴い特異的に発現変化するカルデスモン、カルポニン、α－トロポミオシン、α1－インテグリンなどは、平滑筋細胞形質の分子マーカーと呼ばれている。しかしながら、これまで平滑筋細胞の形質変換の分子機構については不明であった。これは、培養系など研究の基盤となるモデル系が未だ確立されていなかったことによる。

当研究室において、IGF－1、ラミニンが平滑筋細胞の分化型形質維持に決定的な役割を果たしていることを見い出し、分化型形質を維持した血管および内臓平滑筋細胞の初代培養系を確立した。本研究は、血管および内臓平滑筋細胞の分化型形質維持機構を解明する手段の一つとして、この培養システムを用いて分化型平滑筋細胞に特異的に発現する因子の検索を目的とした。

【方法ならびに成績】

分化型および脱分化型ニワトリ砂嚢平滑筋細胞から抽出したmRNA間でPCR法を用いてサブトラクションを行い、分化型平滑筋細胞で特異的に発現する遺伝子のスクリーニングを行った。得られた複数の未知cDNA断片の中で、318bpのcDNA断片に相補的なmRNAの発現が大動脈、砂嚢および脳で認められた。培養した砂嚢平滑筋細胞においてもこのmRNAは分化型平滑筋細胞で強く発現しているのに対し、血清刺激で脱分化した平滑筋細胞では、発現が認められなかった。このmRNAにコードされるタンパク質を解析するため、全鎖長cDNAのクローニングを行い、約10Kbpから成るcDNAを得た。塩基配列の解析により、カドヘリン6BがこのcDNAにコードされていることが判明した。カドヘリン6Bはニワトリ初期胚において陥入したneural plate、特にneural crestが形成される部位に一過性に発現することが報告されている。しかしながら、平滑筋組織での発現はこれまで解析されていない。申請者が行ったin situ hybridizationでは、ニワトリ15日胚において大動脈、食道、前胃、砂嚢を含めた血管および消化管などの平滑筋組織の他、脳、脊髄、網膜、腎臓でカドヘリン6Bの発現が認められた。さらに平滑筋組織において、大動脈中膜平滑筋層および砂嚢平滑筋層に発現が局在することを明らかにした。また、培養血管および内臓平

滑筋細胞において、血清刺激による脱分化でカドヘリン6B の発現が著減することを見い出し、カドヘリン6B が血管および内臓平滑筋細胞において形質依存性に発現制御を受けることを明らかにした。

【総括】

申請者は平滑筋細胞の分化型形質維持の機作を解明する手段の一つとして、分化型平滑筋細胞で特異的に発現する因子をmRNAサブトラクション法により検索した。この結果、カドヘリン6Bが血管および内臓平滑筋細胞で発現していることを初めて見い出した。さらに、カドヘリン6Bは血管および内臓平滑筋細胞の分化型から脱分化型平滑筋細胞への形質転換に際し、著しい発現抑制を受け、平滑筋細胞の形質依存性に発現が制御されていることを明らかにした。以上の結果は、カドヘリン6Bが平滑筋細胞の形質転換の新たな分子マーカーになり得るとともに分化型平滑筋細胞機能への役割を示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

分化型平滑筋細胞から脱分化型平滑筋細胞への形質転換は、動脈硬化などの主因の一つと考えられている。しかしながら、これまで平滑筋細胞の形質転換の分子機構については不明であった。本研究は、平滑筋細胞の分化型形質維持の分子機構を解明するための手段の一つとして、当研究室が開発した平滑筋細胞の分化型形質維持可能な初代培養系を用いて、分化型と脱分化平滑筋細胞から抽出したmRNA間でPCR法を用いたサブトラクションを行い、分化型平滑筋細胞で特異的に発現する遺伝子のスクリーニングを行った。その結果、カドヘリン6Bが分化型平滑筋細胞においてのみ発現していることを見い出した。

カドヘリン6Bはニワトリ初期胚において、神経管で一過性に発現することが報告されているが、本研究により、ニワトリ後期胚においてカドヘリン6Bは、大動脈、消化管といった平滑筋組織の他、脳、脊髄、網膜および腎臓にも発現していることを初めて明らかにした。さらに、カドヘリン6Bの発現は、平滑筋細胞形質依存性に制御され、血管および内臓平滑筋細胞の分化型から脱分化型平滑筋細胞への形質転換に伴い、著しく発現抑制を受けることを明らかにした。

以上の研究成果より、カドヘリン6Bが平滑筋細胞の形質転換の新たな分子マーカーになり得ることが示唆され、この研究は学位に値するものと認める。