



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/41752">https://hdl.handle.net/11094/41752</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">大阪大学の博士論文について</a>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

|               |                                                                                                                                       |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | 千 森 義 浩                                                                                                                               |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                             |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 5 2 2 2 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<br>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<br>(血管および内臓平滑筋細胞におけるカドヘリン 6 B の形質依存性発現制御) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 祖父江憲治<br><br>(副査)<br>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、 $\alpha$ -トロポミオシン、 $\alpha$ 1-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 6 B 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 6 B 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 6 B 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

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 6 B の発現が著減することを見出し、カドヘリン 6 B 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 6 B 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出した。さらに、カドヘリン 6 B 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 6 B 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 6 B 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出した。

カドヘリン 6 B 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 6 B 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 6 B 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 6 B 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。