



Title	Cdc42 Mediates Bmp-induced Sprouting Angiogenesis through Fmnl3-driven Assembly of Endothelial Filopodia in Zebrafish
Author(s)	若山, 勇紀
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/51892">https://hdl.handle.net/11094/51892</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*


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

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	若山 勇紀
論文題名 Title	Cdc42 Mediates Bmp-induced Sprouting Angiogenesis through Fmn13-driven Assembly of Endothelial Filopodia in Zebrafish (ゼブラフィッシュにおいてCdc42はFmn13による内皮細胞の糸状仮足形成を介してBmpによる血管新生を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>血管新生は、既存の血管から内皮細胞が出芽・分枝し、新たな血管網を構築するプロセスである。血管新生過程の内皮細胞は、活発に細胞形態、運動能を変化させ、新たな血管網を構築する。これまで、内皮細胞の形態・運動能を制御する機構については、主に培養内皮細胞を用いて研究されてきた。しかし、培養皿上の内皮細胞と生体内の内皮細胞の形態は大きく異なっており、生体内で内皮細胞が血管網を形成する機構は、依然として不明な点が多い。本研究では、血管新生過程の内皮細胞の形態・運動能制御に関わるシグナル伝達系を解明するため、胚が透明で生きたまま血管を観察できるゼブラフィッシュをモデル動物として用い、蛍光生体イメージング技術を駆使してRhoファミリーGタンパク質によるアクチン細胞骨格の再編成が血管新生をいかに制御しているのか解明を試みた。</p>	
〔方法(Methods)〕	
<p>In vivoでの血管新生を解析するために、ゼブラフィッシュをモデル動物として用い、To12トランスポゾンシステムにより、GFPやアクチン可視化蛍光プローブを内皮細胞で発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを樹立した。血管新生によって形成され、形成過程において糸状仮足の形成が盛んに起こることから、ゼブラフィッシュの尾側静脈叢に注目し、共焦点顕微鏡を用いて血管新生過程の内皮細胞の形態・運動能を制御する機構について検討を行った。尾側静脈叢の形成過程における目的のタンパク質の機能を調べるために、モルフォリノオリゴ (MO) もしくはドミナントネガティブを用いた。</p> <p>In vitroでアクチン制御タンパク質の機能を解析するため、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて、野生型もしくは活性変異型のアクチン制御タンパク質を過剰発現させ、免疫染色を行い、アクチン細胞骨格への影響を検討した。</p>	
〔成績(Results)〕	
<p>細胞の形態・運動能は、RhoファミリーGタンパク質によるアクチン細胞骨格の再編成により制御されている。そこで、アクチン細胞骨格を可視化するバイオセンサーを血管内皮細胞で特異的に発現するトランスジェニックフィッシュを樹立し、生体蛍光イメージング解析を行った。その結果、内皮細胞の先端端では、アクチン線維の重合が活発に起こり、糸状仮足が形成されること、この糸状仮足でRhoファミリーGタンパク質の1つであるCdc42の活性が亢進していること、血管新生因子であるBone morphogenetic protein (Bmp) がグアニンヌクレオチド交換因子であるArhgef9bを介して糸状仮足の形成を制御することで尾側静脈叢の形成を制御していること、さらにcdc42 MOもしくはCdc42阻害タンパク質 (ACK42) を用いてCdc42を阻害すると、内皮細胞の糸状仮足形成および尾側静脈叢の形成が阻害されることが示された。以上の結果から、Cdc42によるアクチン細胞骨格の再編成が、内皮細胞における糸状仮足形成および血管新生に重要であることを明らかにした。さらに、Cdc42による糸状仮足の形成に関わる分子を同定するため、血管に発現するアクチン制御タンパク質について検討を行った。その結果、Forminファミリーに属するFormin-like 3 (Fmn13) が血管特異的に発現すること、Fmn13をMOによりノックダウンすると、血管新生による尾側静脈叢の形成が阻害されることがわかった。またin vitroの解析結果から、Fmn13はCdc42によって活性化されることを明らかにした。このことから、Fmn13はCdc42の下流で機能し、血管新生を制御するアクチン制御タンパク質であることが示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>BmpがArhgef9bを介したCdc42の活性化による内皮細胞の糸状仮足の形成を促進していることを明らかにした。活性化されたCdc42はアクチン制御タンパク質であるFmn13と結合し活性化させることで尾側静脈叢での血管新生を促進していることを明らかにした。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 若山 勇紀	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 
	副 査 大阪大学教授 高 島 成 二
副 査 大阪大学教授 高 倉 伸 幸	
論文審査の結果の要旨	
<p>血管新生は、既存の血管から内皮細胞が出芽・分枝し、新たな血管網を構築するプロセスである。血管新生過程の内皮細胞は、活発に細胞形態、運動能を変化させ、新たな血管網を構築するが、その制御メカニズムは明らかにされていない。本論文では、血管新生過程の内皮細胞の形態・運動能制御に関わるシグナル伝達系を解明するため、蛍光生体イメージング技術を駆使してRhoファミリーG蛋白質によるアクチン細胞骨格の再編成が血管新生をいかに制御しているのか蛍光プローブを内皮細胞で発現するTgゼブラフィッシュを用いて解明を試みた。</p> <p>その結果、Arhgef9bを介したBmpによるCdc42の活性化が糸状仮足の形成を促進していることを明らかにした。活性化したCdc42はアクチン制御タンパク質であるFormin-like 3 (Fmn13)と結合し活性化させることで尾側静脈での血管新生を促進していることを明らかにした。</p> <p>これは発生段階での血管新生における内皮細胞の制御機構を知るうえで重要な発見である。</p> <p>以上の結果から、本論文を学位に値するものと認める。</p>	