



Title	Zyxin Mediates Actin Fiber Reorganization in Epithelial-Mesenchymal Transition and Contributes to Endocardial Morphogenesis
Author(s)	森, 雅樹
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54199
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

【11】

氏 名	もり 森 雅 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 3 3 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 21 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病態制御医学専攻
学 位 論 文 名	Zyxin Mediates Actin Fiber Reorganization in Epithelial-Mesenchymal Transition and Contributes to Endocardial Morphogenesis (Zyxinは上皮間葉転換においてアクチン線維形成を誘導し、心内膜床の形態形成に寄与する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 金 田 安 史 (副査) 教 授 月 田 早 智 子 教 授 小 室 一 成

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal transition, 以下EMT) は、原腸嵌入や心臓の弁形成など種々の形態形成過程や、癌細胞の転移能獲得において認められる現象である。発生異常や悪性腫瘍などの治療ターゲットとして注目されているがその分子メカニズムは完全には明らかになっていない。我々は、focal adhesion関連分子であるZyxinに着眼し、解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

マウス正常乳腺上皮 (NMuMG) 細胞は、TGF-β 1刺激により速やかにEMTを起こす。我々は、このin vitroのEMT実験系においてZyxin遺伝子発現が誘導されることを見出した。また、GFP (Green fluorescent protein)-Zyxin蛋白を導入した細胞でのタイムラプスイメージングにより、ZyxinはTGF-β 1処理によりfocal adhesionからアクチン線維に沿った配置に細胞

内局在を変化させることを明らかにした。

siRNAを用いたZyxinのノックダウン実験により、Zyxinが、TGF-β 1応答性の細胞運動やアクチン線維形成に必要であることを明らかにした。ノックダウンの影響はsiRNA抵抗性のZyxin遺伝子を導入することで救済された。

また、マウス発生期の発現をin situ hybridizationで調べることにより、Zyxinが、発生中の心臓において心内膜床に強く発現していることを見出した。また心内膜床での発現パターンは、強力なEMT誘導性転写因子であるTwist1と類似していた。

胎生9.5日のマウス心内膜床組織はコラーゲンゲル上で培養することで、体外でEMTを起こす。我々は、レンチウイルスベクターでZyxinに対するshRNAを導入すると、心内膜細胞の遊走や細胞外基質への浸潤が抑制され、アクチン線維形成が阻害されることを見出した。以上の結果から、focal adhesion関連分子であるZyxinが、TGF-β 1応答性のEMTにおいてアクチン線維形成や細胞遊走の亢進のために必要であり、また心内膜床のEMTの実行に必須であると考えられた。

さらに、EMT誘導性転写因子のin vitro解析から、Twist1が、TGF-β 1誘導性のEMTにおいてZyxinの発現を担っていることを明らかにした。Twist1はアクチン線維形成や細胞遊走を促進したが、Zyxinのノックダウンによって抑制された。この結果より、Twist1によるEMTにおいて、Zyxinが実行因子として機能していると考えられた。

〔 総 括 〕

Zyxinは、TGF-β 1誘導性のEMTにおいて、Twist1の制御下に機能し、アクチン線維形成や細胞遊走を促進することにより、EMT進行に寄与する。また、Zyxinは心臓発生期の心内膜床に発現しており、心内膜床の形態形成運動に必要である。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

心内膜床の発生異常は難治性心疾患の原因となり、臨床的な課題である。心内膜床から中隔や弁膜を形成するプロセスは複雑で、分子基盤は不明な点が多い。心内膜細胞は、上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal transition, 以下EMT) を経て組織としての運動性を獲得し、一層の上皮から中隔や弁膜のような立体構造を形成する。

本研究は、アクチン関連分子であるZyxinが、心内膜のEMTや形態形成に寄与することを示した。Zyxinは、TGF-β 1誘導性のEMTに伴い、転写因子Twist1の制御下に発現誘導され、細胞運動やアクチン線維形成に必要である。また、マウスでは発生中の心内膜床で発現が強く、その発現パターンはTwist1と合致する。心内膜床組織を採取し培養すると、心内膜細胞はEMTのプロセスを実行し、形態形成の過程を体外で検討できる。この系で、Zyxinの発現をshRNAで抑制すると、心内膜細胞のEMTが抑制される。

本研究は、心内膜床の発生機構に新たな知見を与えるものであり、先天性心疾患の病態理解や治療への発展が期待される。よって、博士 (医学) の学位授与に値する。