



Title	The Transcription Factors Tbx18 and Wt1 Control the Epicardial Epithelial-Mesenchymal Transition Through Bi-directional Regulation of Slug in Murine Primary Epicardial Cells
Author(s)	武市, 真希子
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59840
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

論文内容の要旨

〔目的〕

心発生の過程で心外膜細胞は心外膜上皮間葉転換（心外膜EMT）を経て心臓内部へと浸潤し、平滑筋細胞や纖維芽細胞へと分化する。心外膜に発現する転写因子の異常は心臓の発生異常を引き起こし、胎生致死となる。しかしながら、転写因子によってどのように心外膜EMTが制御されるのかはまだ充分に理解されていない。そこで我々は発生期の心外膜に発現する二つの転写因子、*T-box18* (*Tbx18*) と *Wilms Tumor 1* (*Wt1*) に着目し、心外膜EMTにおけるこれらの分子機能を検討した。

〔方法ならびに成績〕

マウス胎仔の心外膜細胞を初代培養し、*Tbx18*と*Wt1*のノックダウンを行った。*Wt1*をノックダウンすると心外膜EMTが誘導され、遊走能の亢進、間葉系の接着分子である*N-cadherin*の発現増加と心外膜細胞に発現する接着分子*ZO-1*の減少が認められた。一方*Tbx18*をノックダウンすると、*TGFβ1*や*Wt1*ノックダウンにより誘導される心外膜EMTが抑制された。*Slug*はEMTのマスター遺伝子で、心外膜細胞に発現する事が知られている。*Wt1*ノックダウンは*Slug*の発現を増加させ、逆に*Tbx18*ノックダウンは*Slug*の発現を抑制した。*Slug*をノックダウンすると*TGFβ1*や*Wt1*ノックダウンにより誘導される心外膜EMTが抑制されたことから、*Slug*の発現が心外膜EMTに重要であることが示唆された。さらに、*Tbx18*と*Wt1*を内在性に発現しない正常マウス乳腺上皮細胞 (NMuMG-C7細胞) に*Tbx18*または*Wt1*を導入した細胞株を作製したところ、*Tbx18*の導入により*Slug*の発現が増加し、*Wt1*の導入により*Slug*の発現が減少した。これらのNMuMG-C7細胞株を用いたクロマチン免疫沈降により、*Slug*のプロモーター領域で*Tbx18*と*Wt1*の結合が認められた。また、マウス初代培養心外膜細胞において*Slug*のプロモーター活性は*Tbx18*のノックダウンによって低下し、*Wt1*のノックダウンによって上昇したことから、*Tbx18*と*Wt1*が*Slug*のプロモーター領域に結合し発現を直接制御していることが示唆された。

〔総括〕

本研究ではマウス初代培養心外膜細胞を用いて、発生期の心外膜に発現する二つの転写因子*Tbx18*と*Wt1*の心外膜EMTにおける重要性を明らかにした。*Wt1*ノックダウンは*Slug*の発現を増加させることで心外膜EMTを誘導し、反対に*Tbx18*ノックダウンは*Slug*の発現を減少させることで*TGFβ1*刺激や*Wt1*ノックダウンで誘導される心外膜EMTを抑制した。これらの結果から、二つの転写因子*Tbx18*と*Wt1*が*Slug*の発現を双方に調節することで心外膜細胞のEMTを制御することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究ではマウス初代培養心外膜細胞を用いて、発生期の心外膜に発現する二つの転写因子*T-box18* (*Tbx18*) と *Wilms Tumor 1* (*Wt1*) の心外膜EMTにおける重要性を明らかにした。心発生の過程で心外膜細胞は心外膜上皮間葉転換（心外膜EMT）を経て心臓内部へと浸潤し、平滑筋細胞や纖維芽細胞へと分化する。心外膜に発現する転写因子の異常は心臓の発生異常を引き起こし胎生致死となるが、転写因子によって心外膜EMTがどのように制御されるのかはまだ充分に理解されていない。申請者はマウス胎仔心外膜の初代培養細胞を用い、心外膜EMTにおける*Tbx18*と*Wt1*の機能を生化学的に検討した。その結果、*Tbx18*と*Wt1*がEMTのマスター遺伝子である*Slug*の発現を双方に調節することで心外膜細胞のEMTを制御することが示唆された。本論文は心発生に必須である心外膜細胞の制御機構に新たな知見を加えた意義のあるものであり、学位に値すると考える。

【53】

氏名 武市真希子

博士の専攻分野の名称 博士（医学）

学位記番号 第25879号

学位授与年月日 平成25年3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 The Transcription Factors *Tbx18* and *Wt1* Control the Epicardial Epithelial-Mesenchymal Transition Through Bi-directional Regulation of *Slug* in Murine Primary Epicardial Cells
(転写因子 *Tbx18* と *Wt1* は *Slug* の発現調節を介して心外膜細胞の上皮間葉転換を逆方向に制御する)

論文審査委員
(主査)
教授 金田 安史

(副査)
教授 楽木 宏実 教授 高倉 伸幸