

論文の内容の要旨

論文題目

Vasorin, a novel TGF- β binding cell-surface protein that is specifically expressed in vascular smooth muscle cells

血管平滑筋細胞特異的に発現する新規 TGF- β 結合膜タンパク質
Vasorin の単離とその機能解析

指導教官 永井良三 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 11 年 4 月 入学

医学博士課程

内科学専攻 (循環器内科学)

氏名 池田祐一

細胞膜受容体、接着因子などの膜タンパク質は様々な生命現象において重要な働きを担っている。膜タンパク質は N 末に存在するシグナル配列とよばれる疎水性のアミノ酸クラスターによって細胞表面に移行することができる。このシグナル配列の有無を指標に cDNA ライブラリーを濃縮する方法 (シグナルシークエンストラップ法) が従来より知られている。最近、レトロウイルスベクターと恒常的活性型サイトカインレセプターを組み合わせることで従来の方法から格段にスクリーニングの効率が向上したシグナルシークエンストラップ法が開発された。そこで、心血管系において重要な働きをする新規膜タンパク質の単離を目指し、この新しく改良されたシグナルシークエンストラップ法を用いて、ヒト心臓 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。

スクリーニングの結果いくつかの新規分子が得られ、そのうちの一つが特徴的なロイシンリッチリピートを有していたため、その分子に着目し遺伝子全長を単離後、機能解析を行った。

バゾリンと名付けられたこの分子はロイシンリッチリピートドメインを細胞外に有する典型的な 1 型膜タンパク質で、in situ hybridization analysis によりその発現は血管平滑筋細胞特異的であることが判明した。またバゾリンの発現は血管平滑筋細胞の分化とともに増加し、脱分化とともに減少した。さらにラット頸動脈バルーン傷害モデルにおいても脱分化した未熟な血管平滑筋細胞を含む新生内膜においてバゾリンの発現は正常血管の中膜と比較して有意に減少していた。これらの結果は、バゾリンが血管平滑筋細胞の分化とともに制御されている分子であり、血管平滑筋細胞の分化表面マーカーとなりうることを示唆している。

バゾリンの細胞外ドメインに存在するロイシンリッチリピートは蛋白質相互作用に関与することが知られており、バゾリンはこのロイシンリッチリピートドメインを介して他の蛋白質と結合しその生理的機能を果たすと予想された。データベース上の相同性検索により、バゾリンはデコリン (TGF- β との結合が知られているスモールプロテオグリカン) とロイシンリッチリピートにおいて有意な相同性を示すことがわかった。そこで表面プラズモン共鳴センサーと蛋白架橋実験によりバゾリンと TGF- β の相互作用を調べ、両者が直接特異的に結合することを見いだした。続いて、バゾリンによる TGF- β シグナルの制御を検討するため、バゾリンを安定に発現する CHO 細胞株を樹立し (gain of function study)、その細胞株を利用して TGF- β 刺激によるレポーターアッセイ、及び下流分子 Smad2 のリン酸化を調べたところ、TGF- β シグナルはバゾリンにより負に制御されることが示された。また逆に TGF- β 刺激によりバゾリンの発現がラット培養大動脈血管平滑筋細胞において有意に増強されることも判明した。以上より、バゾリンは血管平滑筋細胞特異的な TGF- β シグナルの負のフィードバック調節因子であることがわかった。

TGF- β は血管平滑筋細胞の分化および血管傷害後の新生内膜形成において重要な働きをしている。最近の in vivo での検討で、血管壁局所的に TGF- β シグナルを増強または抑制することによって血管傷害後の新生内膜形成がそれぞれ促進、抑制されることが示唆されている。そこで本研究結果を踏まえ、以下のような仮説を考えた。血管傷害により、血管平滑筋細胞は脱分化をおこす。血管平滑筋細胞の脱分化に伴ってバゾリンの発現が低下し、バゾリンが形成していた血管平滑筋細胞における TGF- β シグナルの負のフィードバック調節機構が消失する。その結果、血管傷害部位における血管平滑筋細胞の TGF- β シ

グナルが増強され、新生内膜形成が促進される。

以上よりバゾリンはPTCA後の再狭窄などの病態に関与しているだけでなく、新たな治療のターゲットにもなりうる可能性が示唆された。