

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 池田祐一

本研究は、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、レトロウイルスベクターを利用したシグナルシーケ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ものであり、下記の結果を得ている。

1. スクリーニングの結果、ヒト心臓に発現する膜タンパク質や分泌タンパク質を約 600 個同定した。機能不明の新規のものは 10 個あり、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の全長を単離後、機能解析を行った。
2. 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全長 673 アミノ酸の典型的な 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。
3. 血管平滑筋細胞の分化との関係を調べたところ、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。また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。これらより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が示唆された。
4. 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。
5. 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。

6. 逆にラット培養大動脈血管平滑筋細胞を TGF- β で刺激したところ、バゾリンの発現は有意に増強された。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。

以上、本論文はシグナルシークエンストラップ法を用いて新規 TGF- β 結合膜タンパク質バゾリンをヒト心臓 cDNA ライブラリーから同定し、その未知な機能を明らかにした。TGF- β は血管平滑筋細胞の分化および血管平滑筋細胞による血管傷害後の新生内膜形成において重要な役割を担っており、最近の *in vivo* の研究結果から血管壁局所的に TGF- β シグナルを増強すると新生内膜の形成が促進され、TGF- β シグナルを抑制すると新生内膜の形成が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、以下のような仮説が考えられた。血管傷害により惹起された血管平滑筋細胞の脱分化とともにバゾリンの発現が低下し、バゾリンが形成していた 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。本研究は、PTCA 後の再狭窄などの病態の解明だけでなく新たな治療のターゲットの開発にも重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。