審査の結果の要旨

氏名　　目黒　健太郎

本研究は大動脈平滑筋細胞に発現するナトリウムチャネルの機能と役割を明らかにするため、培養大動脈平滑筋細胞に対して電気生理学的手法を用いてそのチャネルの特徴を明らかにし、ウサギ大動脈バルーン傷害モデルを用いてナトリウムチャネルの病的意義を明らかにしたものであり、下記の結果を得ている。

１、培養ヒト大動脈平滑筋細胞にはパッチクランプ法にて電位依存性ナトリウムチャネルが発現していた。このナトリウムチャネルはテトロドトキシン感受性（IC_{50} = 17 nmol/L）で、性質は神経に発現しているナトリウムチャネルと類似していた。

２、RT-PCR 法及び定量的 RT-PCR 法にて遺伝子の発現をみたところ、SCN9A 遺伝子の著明な発現がみられ、また、SCN9A にてコードされたナトリウムチャネルのタンパクである $Na_V1.7$ の発現が免疫染色にて示されたが、一方生体内での大動脈には SCN9A 遺伝子の発現はほとんどみられなかった。

３、SCN9A 遺伝子に対する siRNA を培養ヒト大動脈平滑筋細胞に導入すると、電位依存性ナトリウムチャネルによると考えられる電流はほとんどみられなくなり、この電流は SCN9A によるものであることが明らかとなった。

４、電位依存性ナトリウムチャネルの役割を調べるためにテトロドトキシンによる細胞の増殖、遊走、貪食及び分泌能の抑制を調べたところ、細胞の遊走、貪食及びマトリックスメタロプロテアーゼ-2（MMP-２）の分泌が抑制され、これらの役割に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

５、ウサギ大動脈平滑筋にても新鮮大動脈ではパッチクランプ法にて L 型カルシウムチャネルが見られたのに対して、培養下では電位依存性ナトリウムチャネルによる電流がみられた。ヒトと同様にこの遺伝子は SCN9A であり、免疫染色法にてタンパクは $Na_V1.7$ であった。

６、ウサギ大動脈バルーン傷害 48 時間後に RT-PCR 法にて SCN9A が通常の 6 倍発現しており、また、免疫染色法にても $Na_V1.7$ の発現がみられ、電位依存性ナトリウムチャネルは培養の時のみならず、内膜肥厚のモデルであるバルーン傷害後にもみられたことより、このチャネルが病的な状態にても発現

していることが示された。

以上、本論文は培養ヒト及びウサギ大動脈平滑筋細胞に電位依存性ナトリウムチャネルが発現し、遺伝子は SCN9A であることを明らかにした。その役割は細胞の遊走、貪食及び分泌であった。また、ウサギでのバルーン傷害 48 時間後にも SCN9A 遺伝子及び NaV1.7 の発現がみられ、本研究はこれまで未知に等しかった電位依存性ナトリウムチャネルの病的意義と役割を明らかにしており、学位の授与に値するものと考えられる。