

審査の結果の要旨

氏名 清水 信 隆

本研究は哺乳類の初期器官発生が行われる胚性期においてメカニカルストレスが胚性幹細胞の血管細胞への分化に及ぼす効果を明らかにするため、マウス胚性幹細胞 (MGZ-5) から得た血管内皮増殖因子受容体 (Flk-1) 陽性細胞において、メカニカルストレス、特に **Cyclic strain** を負荷した場合の細胞増殖、細胞分化の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス Flk-1+ES 細胞に **Cyclic strain** を 24 時間負荷すると、静的条件と比較して伸展強度に応じて有意に細胞数が増大し、**Cyclic strain** が細胞増殖を促進することが示された。
2. マウス Flk-1+ES 細胞に **Cyclic strain** を 24 時間負荷した際の細胞マーカーのタンパク発現をウエスタンブロット並びにフローサイトメトリー、遺伝子発現をリアルタイム PCR により定量すると、血管平滑筋細胞マーカーである SM α -actin、SM-MHC、SM22 α の発現は伸展強度に依存して増大したが、内皮細胞マーカーの Flk-1 は低下、Flt-1、PECAM-1、VE-cadherin は変化なく、血球細胞マーカー CD3、上皮細胞マーカー Keratin の発現にも影響がなかった。以上より、**Cyclic strain** は Flk-1+ES 細胞を血管内皮細胞、血球細胞、上皮細胞ではなく、血管平滑筋細胞に選択的に分化を誘導することが示された。
3. **Cyclic strain** による細胞増殖の促進や血管平滑筋細胞への選択的な分化誘導は、PDGF 受容体のリン酸化阻害剤である AG1296 を加えると抑制された。このことから PDGF 受容体の活性化が Flk-1+ES 細胞の **Cyclic strain** による細胞増殖や血管平滑筋細胞への分化誘導に重要な役割をしていることが示された。
4. **Cyclic strain** は PDGF β 受容体をリン酸化し、そのリン酸化は **Cyclic strain** の強度に依存していた。この **Cyclic strain** による PDGF β 受容体のリン酸化はリガンドである PDGF-BB の中和抗体では阻害されなかった。また **Cyclic strain** を 10 分間負荷した細胞の培養液を **Conditioned medium** として別の Flk-1+ES 細胞に加えたが、PDGF β 受容体のリン酸化は生じなかった。このことから、**Cyclic strain** による PDGF β 受容体のリン酸化は、リガンドに依存しない反応であると考えられた。

以上、本論文はマウス胚性幹細胞 MGZ-5 から Flk-1 を発現した Flk-1+ES 細胞において、Cyclic strain が PDGF β 受容体のリガンド非依存的リン酸化を介して細胞増殖を促進し、血管平滑筋細胞の方向へ選択的に分化を誘導することを明らかにした。本研究は増殖因子などの化学的物質でなく、Cyclic strain という物理的刺激が胚性幹細胞の分化に影響を与えるという新しい知見を明らかとし、未知の部分の多い胚性幹細胞の分化のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられるだけでなく、メカニカルストレスを細胞の分化を制御する技術として利用するという再生医療への応用の可能性を示したものであり、学位の授与に値するものと考えられる。